Aus dem Diabetes-Forschungsinstitut
an der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. F. A. Gries)

UNTERSUCHUNGEN ÜBER NEBENWIRKUNGEN EINER KONTINUIERLICHEN INSULININFUSION IN DEN INTRAPERITONEALRAUM BEI RATTEN

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
VOLKER SCHMITT
FRIEDHELM SCHÖNWALD

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543926_0082

Aus dem Diabetes-Forschungsinstitut
an der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. F.A. Gries)

Untersuchungen über Nebenwirkungen einer kontinuierlichen Insulininfusion in den Intraperitonealraum bei Ratten.

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Volker S c h m i t t
Friedhelm S c h ö n w a l d

1983

Dekan der Medizinischen
Fakultät der Universität
Düsseldorf
Prof. Dr. med Hopf

Referent :
Prof. Dr. med Gries

Koreferent :
Prof. Dr. med Berger

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen
Fakultät der Universität Düsseldorf

An dieser Stelle möchten wir uns bei allen bedanken, die die vorliegende Arbeit ermöglicht und uns bei der Durchführung unterstützt haben.
Unser besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Gries für die Überlassung des Themas und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und des Materials sowie Herrn Dr. Kashiwagi für seine freundliche Unterstützung.
Gleichermaßen danken wir Frau Prof. Dr. med. Dr. med. vet. Herberg für ihren Rat und für die Bereitstellung der tierärztlichen Laboratorien.

Unseren Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
2.	VERSUCHSPLÄNE	4
3.	VERSUCHSTIERE UND MATERIALIEN	6
3.1	Versuchstiere	6
3.2	Materialien	6
4.	METHODEN	8
4.1	Methoden im Vorversuch	8
4.2	Methoden der Kontrollparameter im Hauptversuch	8
4.3	Methodik der Fettzellgrößenbestimmung	10
4.4	Histologie	11
4.5	Insulinresorptionskinetik	12
5.	OPERATIONSTECHNIKEN	14
5.1	Pumpen- und Katheterimplantation bei subkutaner Katheterlage im Vorversuch	14
5.2	Pumpen- und Katheterimplantation bei intraperitonealer Katheterlage im Hauptversuch	14
5.3	Pumpenwechsel	17
6.	ERGEBNISSE	18
6.1	Kontrollparameter im laufenden Experiment	18
6.2	Komplikationen	24
6.3	Makroskopische Beobachtungen	24
6.4	Mikroskopische Beobachtungen	27

		Seite
6.4.1	Fettzelldurchmesser	27
6.4.2	Histologische Befunde	32
6.5	Ergebnisse der Resorptionskinetik	40
7.	DISKUSSION	47
8.	ZUSAMMENFASSUNG	54
9.	LITERATURVERZEICHNIS	56

1. EINLEITUNG

Die maschinelle kontinuierliche Insulinzufuhr hat sich als neues erfolgversprechendes Verfahren in der Therapie des Typ I Diabetes mellitus erwiesen. Durch eine kontinuierliche Insulininfusion kann der Glukosestoffwechsel gebessert und dadurch eventuell ein Auftreten von Spätkomplikationen verzögert werden (1, 2, 10, 20, 23 - 26, 36 - 40, 44, 45 - 50). Derzeit werden vier Wege der Insulinapplikation diskutiert: die intravenöse, die subkutane, die intraperitoneale und die intramuskuläre Zufuhr.

Bei extrakorporalen Pumpen stellt die Katheterlage kein grundsätzliches Problem dar, da sie jederzeit und theoretisch in beliebig kurzen Intervallen gewechselt werden kann. Bei implantierbaren Pumpen ist die Funktionstüchtigkeit auf Dauer jedoch ein kritischer Faktor.
Implantierbare Pumpen stehen vor der Serienreife und sind in Prototypen bereits in der klinischen Anwendung (23, 24, 27, 31, 45, 46, 49).
Die folgenden Überlegungen beziehen sich ausschließlich auf Dauerkatheter für implantierbare Insulinpumpen.

a) Die intravenöse Zufuhr erlaubt eine optimale und prompte Steuerung des Plasmainsulinspiegels. Intravenöse Katheter müssen aber in der Regel nach wenigen Wochen gewechselt werden. Neuerdings sollen Insulinkatheter bis zu einem halben Jahr liegen, nach Irsigler sogar 330 Tage (26, 27).
   Trotzdem scheint die intravenöse Applikation derzeit nicht die Methode der ersten Wahl, da über das Auftreten von Infektionen, Katheterverschluß, Thrombophlebitis, Dislokation oder Bruch des Katheters bereits berichtet wurde (17, 23, 26).

b) Die subkutane Zufuhr erlaubt eine Steuerung des Insulinspiegels mit zeitlicher Verzögerung. Diese beeinträchtigt die Einstellbarkeit des Stoffwechsels offenbar aber nicht oder nur geringfügig. Kontinuierliche subkutane

Insulininfusionen mit einer Dauer von über einem Jahr wurden vor kurzem von Pickup dargestellt (38, 40). Allerdings mußte bei diesen Studien nach Pickup der Katheter alle 2 bis 8 Wochen neu gewechselt werden. Infektionen, sichtbare oder palpable Gewebereaktionen wurden nicht beobachtet, ganz im Gegensatz zu den Berichten von Geisen und Kashiwagi (17, 28, 29).

c) Der Peritonealraum wird als Alternative zu den beiden anderen genannten Applikationswegen diskutiert, obgleich über die Resorptionskinetik von intraperitoneal appliziertem Insulin in der Langzeitanwendung wenig bekannt ist. Vorteile des Intraperitonealraumes sind, daß dieser ein anatomisch getrennter, extravaskulärer Raum ist und sich damit die Gefahr des Katheterverschlusses oder der Thrombose verringert.
Nach Schade vollzieht sich die Resorption aus dem Intraperitonealraum relativ rasch (45, 47, 48, 50), so daß eine befriedigende Kontrolle einer postprandialen Hyperglykämie möglich zu sein scheint (5, 14, 45, 47).
Eine direkte Resorption von Insulin aus dem Peritonealraum in die Pfortader, und damit eine Verminderung der Gefahr eines peripheren Hyperinsulinismus, ist möglich. Nur etwa 50 % der infundierten Insulinmenge erscheinen in der peripheren Zirkulation (47, 48, 50).
Schließlich scheint die intraperitoneale Applikation besonders geeignet, die Implantation einer Insulinpumpe ohne kosmetische Beeinträchtigung des Trägers zu ermöglichen.

Die subkutanen und intraperitonealen Applikationswege sind in der Langzeitanwendung noch wenig systematisch untersucht. Es ist nicht bekannt, ob und wie das subkutane Gewebe bzw. das Peritoneum (Netz) auf den Fremdkörperreiz des Katheters reagieren und welche Effekte eine kontinuierliche hohe Insulinkonzentration an der Katheterspitze ausübt.
In Voruntersuchungen mit der kontinuierlichen subkutanen Insulininfusion an Ratten beobachteten wir sichtbare Knotenbildungen und elektronenmikroskopisch große Fettzellen sowie

eine neugebildete Vaskularisation im Bereich der Katheterspitze, sechs Wochen nach der Implantation. Das Auftreten einer Hypertrophie des Fettgewebes bei ständiger Injektion von Insulin in die gleichen Areale und die Zufallsbeobachtung eines Netzlipoms bei intraperitonealer Applikation von Albisser lassen in Übereinstimmung mit pathophysiologischen Vorstellungen spezifische Effekte erwarten (3).
Eine Fettgewebshypertrophie wäre nicht erwünscht. Durch Lipomatose oder Fremdkörperreaktion könnte die Resorptionskinetik von Insulin verändert werden.

FRAGESTELLUNG

Ziel der vorliegenden Experimente ist es, an gesunden Tieren

1. histologische Reaktionen am Fettgewebe
   des Großen Netzes
   a) auf den Fremdkörperreiz des Katheters und
   b) auf lokal hohe Insulinspiegel, sowie
2. bei Vorliegen von Gewebereaktionen die Änderung
   der Insulinresorptionskinetik zu prüfen.

2. VERSUCHSPLÄNE

Es wurden zwei Experimente durchgeführt, Vorversuch und Hauptversuch, deren zeitlicher Ablauf in den Tabellen 1 und 2 dargestellt ist.

Tabelle 1
Zeitraster des Vorversuches

Implantation ↓

Woche	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Futter- und Trinkmengenbestimmung	X	X	X	X	X	X	X
Körpergewicht	X	X	X	X	X	X	X
Blutglukose	X	X	X	X	X	X	X
Operation	X						
Pumpenwechsel			X	X		X	
Pumpengewicht	X		X	X		X	X
Histologie							X

Tabelle 2

Zeitraster des Hauptversuches

Woche	-1.	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
			↓ Implantation									
Futter- und Trinkmengen-bestimmung	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Körpergewicht	X	X		X		X		X		X		X
Blutglukose	X	X		X		X		X		X		X
Operation			X									
Pumpenwechsel				X		X		X		X		
Pumpengewicht			X	X		X		X		X		X
Plasmainsulin		X									X	
Insulinanti-körper		X									X	
Kinetik												X
Fettzell-größen												X
Histologie												X

3. VERSUCHSTIERE UND MATERIALIEN

3.1 Versuchstiere

Die Untersuchungen wurden im Vorversuch an männlichen Wistar-Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 259 g (N = 20) durchgeführt, im Hauptversuch an männlichen Wistar-Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 335 g (N = 50).

3.2 Materialien

Pumpe

Die Insulininfusion erfolgte in beiden Versuchen mit der Alzet osmotic minipump^{R}, Modell 2002:
Reservoirvolumen 200 µl
Länge 2,5 cm, Durchmesser 0,7 cm, Leergewicht 1,1 g
Steady state in vivo pumping rate 0,45 µl/h ± 0,04 (Herstellerangaben).

Katheter

Es wurden zwei Katheter verwendet. Im Vorversuch wurde ein Silikon-Katheter "Silastic^{R}" (ø 1.17 mm/0.62 mm) benutzt, im Hauptversuch ein Polyvinylchlorid-Katheter (Tygon). Der relativ harte Tygon-Katheter (ø 1,5 mm/0,5 mm) wurde verwendet, weil die mechanische Beanspruchung bei Lokalisation im Großen Netz größer ist, als dies bei subkutaner Katheterlage im Vorversuch der Fall war.

Insulin

In beiden Versuchen wurde Insulin HOE 100-R, op 140279 der Firma Hoechst (1 ml = 100 E) infundiert.

Placeboinfusion

Im Vorversuch wurde der Kontrolltiergruppe 0,9 %ige NaCl-Lösung infundiert. Für den Hauptversuch lieferte die Insulin-Herstellerfirma (Hoechst) ein Placebopräparat, das bis auf das Insulin in seiner Zusammensetzung dem Originalpräparat entsprach.

Gewebekleber

Die Fixierung der Katheterspitze erfolgte mit dem Kleber "Histoacryl Blau" der Firma Braun.

Fixierung der Gewebeproben

Die Fixierung zur histologischen Untersuchung nach beiden Versuchen erfolgte mit Glutar-Aldehyd 2,8 %.

Tierfutter

Alle Tiere wurden mit "ssniff Rattendiät" der Firma Plange gefüttert.

4. METHODEN

4.1 Methoden im Vorversuch

Bestimmt wurden die Kontrollparameter Blutglukose, Körpergewicht, Plasmainsulin, Pumpengewicht, Futter- und Trinkmengen auf die nachfolgend für den Hauptversuch beschriebene Weise. Am Ende des Vorversuches wurde eine histologische Untersuchung des subkutanen Gewebes (Gewebeentnahme wie unter 4.4 beschrieben) durchgeführt.

4.2 Methoden im Hauptversuch

Die Bestimmung des Insulins erfolgte mit dem Radioimmunoassay der Firma Serono, Code 1624 (Doppelantikörpertechnik mit zusätzlicher Fällung durch Polyäthylenglykol).
Die untere Nachweisgrenze dieses Insulin-Assays liegt bei 1-2 µIU/ml.
Aufgrund der hohen Insulindosis (als Bolus) wurde von jeder Serumprobe eine Verdünnungsreihe von 1:1, 1:5, ... 1:625 erstellt.

Die Insulinantikörperbestimmung wurde mit einer modifizierten Methodik nach G. Rosselin (44a) durchgeführt.
Reagentien:
^{125}J-Rinder-Insulin: spezifische Aktivität: 143 mCi/mg
Gesamtaktivität: 5,6 uCi/mE
1 mE = 39,2 ng = 1 ml

30 µl Serumproben: Messung individuell und in Doppelbestimmungen. Phosphatpuffer: pH 7,4. Silikosorbe (Dryfuß, Paris).

2 ml ^{125}J-Insulin wurden mit dem Phosphatpuffer auf 200 ml verdünnt. Von dieser Verdünnung wurden 0,5 ml (= 196 pg ^{125}J-Insulin) für eine Einzelbestimmung benötigt. Das Serum wurde ebenfalls mit Pufferlösung verdünnt. Die Finalkonzentration

betrug 1:100 und 1:1100. Für jede Messung wurden 0,5 ml des verdünnten Serums und 0,5 ml des verdünnten ^{125}J-Insulins gut gemischt und anschließend über Nacht, bei 4^{o}C, inkubiert. Nach der Inkubation erfolgte die Trennung von nicht-antikörpergebundenem und antikörpergebundenem Insulin durch Zugabe von Silikosorbe und Zentrifugation.
Anschließend wurde das ungebundene Insulin (Überstand) abgesaugt. Danach konnte die gebundene Radioaktivität im Gamma-Szintillationszähler gemessen werden.

Die Blutglukose wurde mit der Hexokinase-Methode nach Enteiweißung ("Gluco-Quant", Boehringer) im LKB-Analyser bestimmt. Schnellteste der Blutglukosewerte während der Insulinresorptionskinetik erfolgten mit dem Hämogluco-Test-Streifen 20-800 (Boehringer).

Die Größe der Fettzellen wurde nach M. Rodbell (siehe 4.3) ermittelt.

Die Kontrollparameter im laufenden Experiment sowie deren Bestimmungszeitpunkte sind in Tabelle 1 und 2 (Seite 4 und 5) dargestellt.
Die Blutglukose wurde jeweils zwischen 16 h und 17 h bestimmt. Dabei erfolgte die Blutentnahme mit 10 µl Mikropipetten aus der Schwanzvene vor Verabreichung der intraperitonealen Injektion zur Narkose.

Die Futter- und Trinkmengen wurden jeweils nach 7 Tagen immer zum gleichen Zeitpunkt (18 h) ausgewogen und die mittlere Futter- und Trinkmenge pro Tag errechnet.

Die Feststellung des Pumpengewichtes, jeweils vor der Implantation sowie nach Trennung der Pumpe vom Katheter beim Pumpenwechsel, diente zur Kontrolle der Pumpleistung (Gewichtsbestimmung: Sartorius-Waage Typ 2304, Meßgenauigkeit 10 µg).

Bei quantifizierbaren Untersuchungen wurden arithmetischer Mittelwert, Standardabweichung des Mittelwertes und die Varianz berechnet.
Die Signifikanzprüfung erfolgte durch den t-Test für unverbundene Stichproben. Dabei wird ein statistisch signifikanter Unterschied angenommen, wenn $p \leq 0{,}05$ ist; d.h., wenn die Wahrscheinlichkeit für ein zufälliges Zustandekommen kleiner als 5 % ist.

4.3 Methodik der Fettzellgrößenbestimmung (43, 33, 22, 21)

Herstellung des Na-Bicarbonat-Puffers nach Umbreit:

1. Stock-Lösung

4,50 %ige NaCl-Lösung	20,0 ml	180,0 ml
5,75 %ige KCL-Lösung	0,8 ml	7,2 ml
8,08 %ige $CaCl_2 \cdot 2H_2O$-Lösung	0,3 ml	2,7 ml
19,1 %ige $MgSO_4$-Lösung	0,2 ml	1,8 ml
10,55 %ige KH_2PO_4-Lösung	0,2 ml	1,8 ml
	ad 109,0 ml	981,0 ml

2. Zu 109,0 ml dieser Stock-Lösung wurden 21 ml eines 1,3 %igen $NaHCO_3$ gegeben und 20 Minuten mit Carbogen begast.

3. Es erfolgte der Ansatz dieser frisch begasten Stock-Lösung mit 4 %igem Human- bzw. Rinderalbumin und die Einstellung mit $^n/_{10}$ NaOH auf pH 7,4.

4. Ca. 100 mg Fettgewebe wurden mit 3 ml Albumin-Puffer und 10 mg Kollagenase 1 Stunde bei 37° unter leichtem Schütteln in Plastikgefäße inkubiert.

Die Suspension wurde quantitativ in Plastik-Spitzröhrchen überführt und bei ca. 1000 g zentrifugiert. Nach vorsichtigem Absaugen des Unterstandes konnte der Überstand gefärbt werden.
Hierzu wurde Methylenblau mit Albumin-Puffer bis zur sattblauen Färbung angesetzt, filtriert und der Überstand mit dem Methylenblau-Puffer halb aufgefüllt und nochmals eine halbe Stunde inkubiert. Es erfolgt abermals ein Zentrifugieren bei ca. 1000 g, und der Überstand wurde auf einen silikonisierten Objektträger gegeben. Nach Abdecken mit einem Deckglas konnten die Fettzellen unter dem Mikroskop photographiert werden. Die Fettzellen ließen sich dann durch den mitphotographierten Maßstab in ihrem Durchmesser beurteilen.
Mit 16facher Vergrößerung umfaßte ein Gesichtsfeld durchschnittlich 20 bis 30 Zellen. Pro Präparat wurden 6 Gesichtsfelder photographiert, so daß jeweils 100 Zellen eines Tieres ausgezählt werden konnten.
Es erfolgte die Bestimmung des Mittelwertes der Durchmesser und der Standardabweichung.

4.4 Histologie

Im Vorversuch wurden alle Tiere histologisch untersucht, jedoch keine Bestimmung der Fettzellgrößen durchgeführt.
Im Hauptversuch wurde bei jeweils 6 Tieren der Versuchsgruppen Gewebe für die Bestimmung der Fettzellgröße entnommen, jeweils 6 Tiere wurden histologisch untersucht.

Unter Anwendung der gleichen Schnittechnik wie zur Katheterimplantation (siehe 5.) wurde der Katheter 3 - 4 cm distal der Spitze durchtrennt und mittels einer Hamilton-Spritze durch diesen 2,8 %iges Glutar-Aldehyd zur Fixation injiziert. Anschließend folgte die großzügige Exstirpation der Katheterspitze mit dem umgebenden Gewebe. In gleicher Weise wurde die Katheter- und Gewebeexstirpation zur Fettzellgrößenbestimmung vorgenommen.
Die histologischen Untersuchungen wurden im Labor von Prof. Dr. med. Müntefering, Universität Mainz, vorgenommen.

4.5 Insulinresorptionskinetik

Versuchstiere

Nach 10wöchiger Infusionsdauer wurde bei 35 männlichen Wistar-Ratten eine Insulinresorptionskinetik durchgeführt.

Zahl der Tiere in den Tiergruppen:
Insulingruppe: N = 11 (ein Tier starb am letzten Versuchstag)
Placebogruppe: N = 12
Kontrollgruppe: N = 12

Die Tiere waren zu diesem Zeitpunkt 6 1/2 Monate alt, das Körpergewicht betrug ($\bar{x} \pm SD$):
Insulingruppe: 382 ± 22 g
Placebogruppe: 365 ± 18 g
Kontrollgruppe: 375 ± 9 g

Bei der Placebogruppe wurde zwei Tage zuvor eine insulingefüllte Pumpe implantiert, um zu gewährleisten, daß bei der Injektion des Insulins durch den Katheter, dieser vollständig mit Insulin gefüllt ist. Der Zeitpunkt dieses Pumpenwechsels wurde aufgrund der Pumprate so berechnet, daß bei Durchführung der Kinetik die Placebolösung im Lumen des Katheters vollständig durch Insulin ersetzt worden war.

Dosierung des Insulins

Die Insulindosis betrug bei allen Tieren 3 IE Insulin pro kg Körpergewicht. Durchschnittlich erhielten ($\bar{x} \pm SD$):
Insulingruppe = 1,15 ± 0,07 IE, entsprechend: 11,5 ± 0,7 µl
Placebogruppe = 1,1 ± 0,05 IE, entsprechend: 11 ± 0,5 µl
Kontrollgruppe = 1,13 ± 0,03 IE, entsprechend: 11,3 ± 0,3 µl

Injektionstechnik bei der i.p. Kinetik

Nach Nembutal^{R}-Anästhesie (0,4 mg/kg KG i.p.) wurde das Insulin mittels Hamiltonspritze als Bolus direkt durch den

Katheter appliziert. Die Zeitdauer der Injektion betrug 5 Sekunden. Bei den 6 Kontrolltieren erfolgte die Applikation direkt in die freie Bauchhöhle.

Injektionstechnik bei der i.v. Kinetik

Die übrigen 6 Kontrolltiere erhielten den Insulinbolus zentral intravenös.
Nach dem Freipräparieren einer Vena jugularis und vorsichtiger Mobilisierung der Vene aus ihrer Umgebung, wurde diese im Abstand von 5 mm jeweils mit einer Ligatur locker umschlungen. Zwischen beiden Ligaturen erfolgte dann die Punktion der Vene. Anschließend konnte ein dünner Polyäthylenkatheter durch die Punktionsstelle nach zentral vorgeschoben werden. Gleichzeitig wurde die Vene durch die distale Ligatur unterbunden. Nach Aspiration von Blut wurde auch die zweite Ligatur festgezogen.
Nach der Bolusinjektion wurde der Katheter mit 0,9 %iger Kochsalzlösung nachgespült.

Blutentnahmen

Die Blutentnahmen zur Bestimmung der Blutglukose, peripherem Plasmainsulin und Insulinantikörpern erfolgten aus der Schwanzvene. Das Blut wurde 0, 5, 10, 15, 30 und 45 Minuten nach der Bolusinjektion entnommen. Die Blutmenge betrug zur Bestimmung

der Blutglukose 10 µl,
des Plasmainsulins 250 µl und
der Insulinantikörper 250 µl
(letztere nur beim Nullwert bestimmt).

Die Blutproben zur Bestimmung des peripheren Plasmainsulins sowie der Insulinantikörper wurden direkt nach Entnahme in ein heparinisiertes Eppendorfröhrchen gefüllt, anschließend zentrifugiert, der klare Überstand abpipettiert und in ein weiteres Eppendorfröhrchen überführt. Danach wurde das Plasma bis zur Messung bei -21°C eingefroren.

Um schwere hypoglykämische Zustände bei den Tieren zu erfassen, wurden nach 30 Minuten Blutglukose-Schnellteste bei allen Tieren durchgeführt.

5. OPERATIONSTECHNIKEN

5.1 Pumpen- und Katheterimplantation bei subkutaner Katheterlage im Vorversuch

Die Operation zur subkutanen Katheterimplantation wurde an 20 Ratten durchgeführt.
Die Tiere erhielten eine Nembutal^{R}-Anästhesie, in einer Dosierung von 0,4 mg/kg Körpergewicht i.p. Nach dieser Injektion schliefen die Tiere durchschnittlich nach 4 - 5 Minuten ein und waren nach 7 - 10 Minuten völlig reflexfrei.

In der Lumbalregion der Tiere, parallel zur Wirbelsäule, wurde ein 10 mm langer Schnitt gesetzt und subkutan eine Tasche präpariert. Nach Einbringen des Katheters (Silikon) wurde dieser mit ein bis zwei Nähten fixiert.
Anschließend wurde ein zweiter Schnitt im Nackenbereich der Tiere links paravertebral von 15 mm Länge gesetzt und die Haut derart präpariert, daß ein geeigneter subkutan gelegener Raum zur Implantation der Pumpe entstand.

Von diesem zweiten Schnitt aus konnte der Katheter stumpf mit einer Kocherklemme unter der Haut in diesen Bereich gezogen werden (Tunneltechnik).
Nach Anschluß des Katheters an die Pumpe wurde diese versenkt und die Wunden mit Ethikon 0-4 Einzelknopfnähten verschlossen.
Die Operationsdauer betrug durchschnittlich 20 Minuten.

5.2 Pumpen- und Katheterimplantation bei intraperitonealer Katheterlage im Hauptversuch

Die Operation wurde an einem Kollektiv von insgesamt 30 Tieren durchgeführt, von denen 15 Tiere eine kontinuierliche Insulininfusion und 15 Tiere eine Placeboinfusion erhielten.
Die Ratten erhielten eine Nembutal^{R}-Anästhesie i.p., in beschriebener Dosierung.

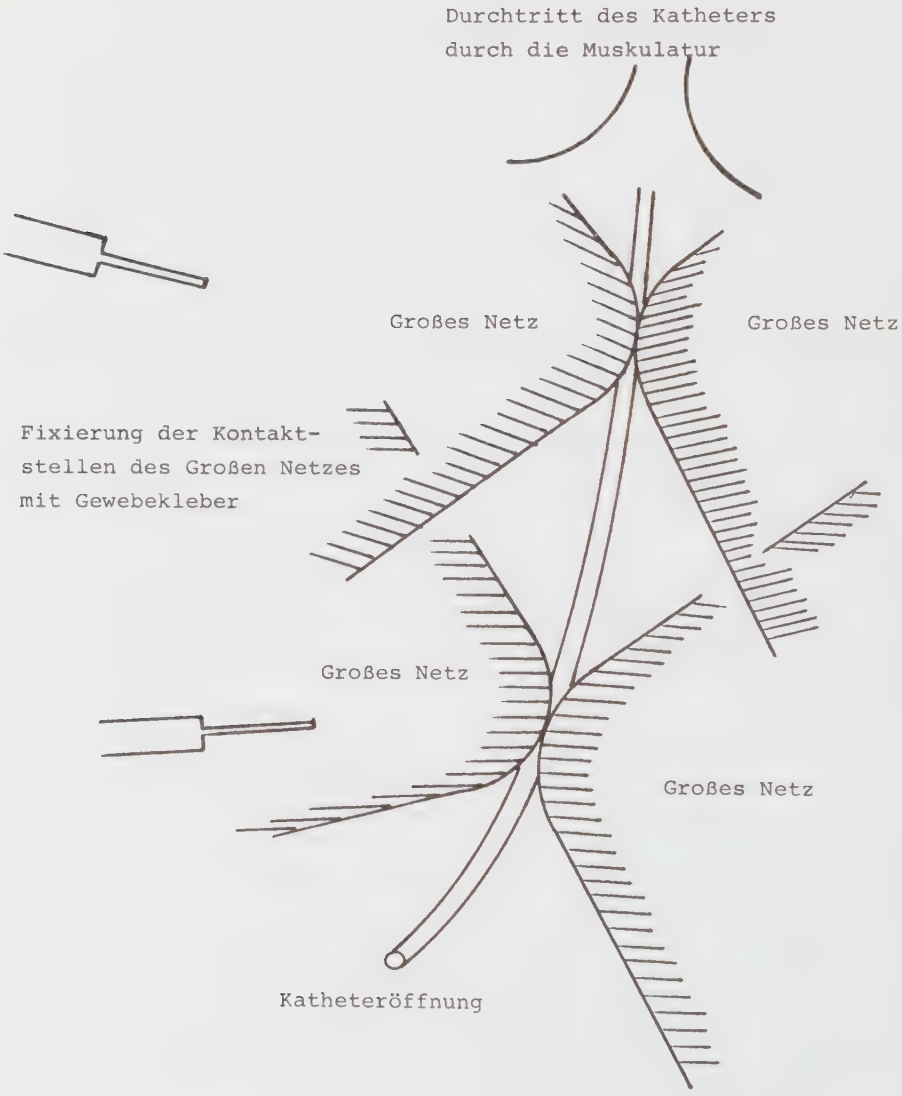
Nach Austastung des Winkels zwischen Wirbelsäule und Rippenbogen wurde ein 15 mm langer Schnitt links vertebral, parallel zum Rippenbogen gesetzt. Nach Durchtrennung von Fascie und Muskulatur erfolgte das Aufsuchen des Großen Netzes. Nach vorsichtiger Mobilisierung des umgebenden Gewebes konnte unter Sicht ein geeigneter Implantationsort präpariert werden. Der Katheter lag insgesamt 20 - 25 mm intraperitoneal und wurde auf nicht ganz halber Länge punktförmig mit dem Gewebekleber Histoacryl Blau fixiert, so daß das Katheterende nach der Fixierung frei lag. Die Aushärtung des Klebers vollzog sich innerhalb von wenigen Sekunden.
Um die bei den Bewegungen der Tiere auftretenden Zugkräfte auf die Katheterspitze so gering wie möglich zu halten, erfolgte eine zusätzliche Fixierung 10 mm distal der Katheterspitze.

Anschließend erfolgte die Implantation der Pumpe im Nackenbereich der Tiere in beschriebener Weise, der Anschluß des Katheters an die Pumpe und der Wundverschluß.

Diese Implantationstechnik erwies sich in Vorversuchen sowohl von der Wahl der Fixierung, als auch von der Lokalisation der Schnitte her als günstig, da auf diese Weise die Tiere von sich aus die Wundnaht nicht beeinflussen konnten.

In aller Regel wurde sowohl die Nembutal^{R}-Anästhesie, als auch der Blutverlust während der Operation von den Tieren gut toleriert.
Die Operationsdauer betrug durchschnittlich 30 Minuten pro Tier.

Skizze zur Fixierung des Katheters am Großen Netz.



5.3 Pumpenwechsel

Die Anästhesie erfolgte wie bei der Erstimplantation.

Nach Lösen der Einzelknopfnähte wurde die Pumpe vorsichtig nach außen mobilisiert und vom Katheter getrennt.
Nach Anbringen der neuen, gefüllten Pumpe konnte die Wunde wiederum mit Ethikon O-4 Einzelknopfnähten verschlossen werden. Nur in wenigen Fällen mußte nach mehrmaligem Pumpenwechsel ein neuer Schnitt gesetzt werden, weil die Haut im Bereich des ersten Schnittes atrophisch und rissig wurde. Dieses war in allen Fällen problemlos möglich, da die Haut des Tieres mit einem gesunden Bereich über die tastbare Pumpe mobilisiert werden konnte und nun dort der Pumpenwechsel vollzogen wurde.

Die Operationsdauer für den Wechsel der Pumpe betrug im Durchschnitt 8 Minuten pro Tier.
Hierbei traten keine Komplikationen auf.

6. ERGEBNISSE

6.1 Kontrollparameter im laufenden Experiment

Der Vorversuch ergab keinen signifikanten Abfall der Blutglukose während der kontinuierlichen subkutanen Insulininfusion. Die Körpergewichte zeigten eine kontinuierliche Zunahme,und die täglich aufgenommenen Trink- und Futtermengen ergaben keinen Unterschied zwischen den Tiergruppen.

Die Mittelwerte der Blutglukose im laufenden Experiment des Hauptversuches zeigt Tabelle 3 sowie Abbildung 1.

Danach ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Tiergruppen. Die Mittelwerte vor der Implantation lagen bei der Insulingruppe bei 105 ± 8 mg/dl, bei der Placebogruppe bei 103 ± 7 mg/dl und bei der Kontrollgruppe bei 106 ± 5 mg/dl. Am Schlußtag des Experimentes, also nach 10wöchiger Infusion, lagen diese Werte vor Durchführung der Resorptionskinetik bei 114 ± 2,2 mg/dl für die Insulingruppe, bei 119 ± 3,1 mg/dl für die Placebogruppe und bei 113 ± 3,8 mg/dl für die Kontrollgruppe.

Es ergab sich keine signifikante Änderung der Blutglukosewertevor und nach der Pumpenimplantation und damit der kontinuierlichen Zufuhr von 1,2 E Insulin pro Tag. Bei den mit Insulin infundierten Tieren war zu keinem Zeitpunkt eine Tendenz zur Hypoglykämie festzustellen.

Die Mittelwerte der Körpergewichte aller drei Tiergruppen zeigten im Laufe des Experimentes eine stetige Zunahme. Ausgangsgewichte vor der Implantation waren 343 ± 16 g bei der Insulingruppe, 330 ± 12 g bei der Placebogruppe und 327 ± 14 g bei der Kontrollgruppe.
Das Gewicht stieg dann im Laufe der 10 Wochen auf 382 ± 22 g bei den Insulintieren, auf 365 ± 18 g bzw. 375 ± 9 g bei den Placebo- und Kontrolltieren.

Den Verlauf der Gewichtsentwicklung stellt Tabelle 4 und Abbildung 2 dar.

Die mittlere tägliche Futteraufnahme lag bei 19,6 g bei der mit Insulin infundierten Gruppe und bei jeweils 18,8 g bei der Placebo- und Kontrollgruppe.

Der Verlauf der Futteraufnahme ist aus Tabelle 5 ersichtlich.

Die mittleren täglichen Trinkmengen lagen bei 22,8 g für die Insulingruppe, bei 20,2 g für die Placebogruppe und bei 16,5 g für die Kontrollgruppe.

Tabelle 3
Mittelwerte der Blutglukose bei den Versuchstieren im Hauptversuch (mg)dl, $\bar{x} \pm SD$)

Verwendete Abkürzungen:
Ins. = Insulingruppe, Plac. = Placebogruppe, Kontr. = Kontrollgruppe, Op. = Pumpenimplantation, Wo. = Woche im laufenden Experiment, Kin. = Insulinresorptionskinetik.

	vor Implantat.	Op.	2.Wo.	4.Wo.	6.Wo.	8.Wo.	10.Wo.
Ins.	105±8	102± 7	112±9	94±11	101±6	99±4	Kin.
Plac.	103±7	102±10	115±9	100± 5	99±6	97±4	Kin.
Kontr.	106±5	104± 5	125±7	108± 7	112±8	97±5	Kin.

Die Blutentnahme für die Blutglukosebestimmung erfolgte immer zur gleichen Tageszeit (16 h - 17 h) und vor Injektion des Narkosemittels.

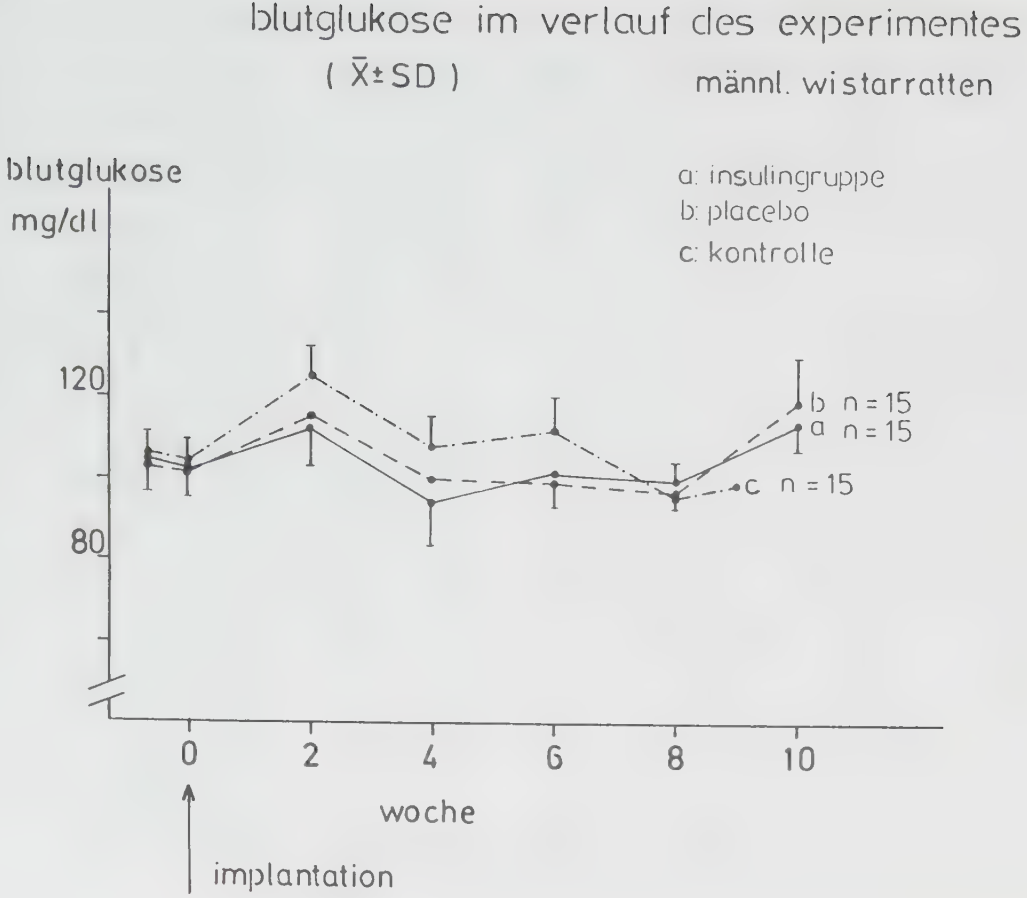
Tabelle 4
Mittelwerte der Körpergewichte bei den Versuchstieren im Hauptversuch (g, $\bar{x} \pm SD$)

Abkürzungen siehe Legende zu Tabelle 3.

	vor Implantat.	Op.	2.Wo.	4.Wo.	6.Wo.	8.Wo.	10.W
Ins.	343±16	351±16	355±18	359±25	377±27	390±23	382±2
Plac.	330±12	335±15	349±16	349±20	362±19	374±18	365±1
Kontr.	327±14	337±15	357±16	353±18	355±17	392±17	375±

Die Tiere wurden immer zur gleichen Tageszeit (17 h - 18 h) gewogen.

Abbildung 1


blutglukose im verlauf des experimentes
(X̄±SD)
männl. wistarratten
blutglukose
mg/dl
a: insulingruppe
b: placebo
c: kontrolle
120
80
b n = 15
a n = 15
c n = 15
0
2
4
6
8
10
woche
implantation

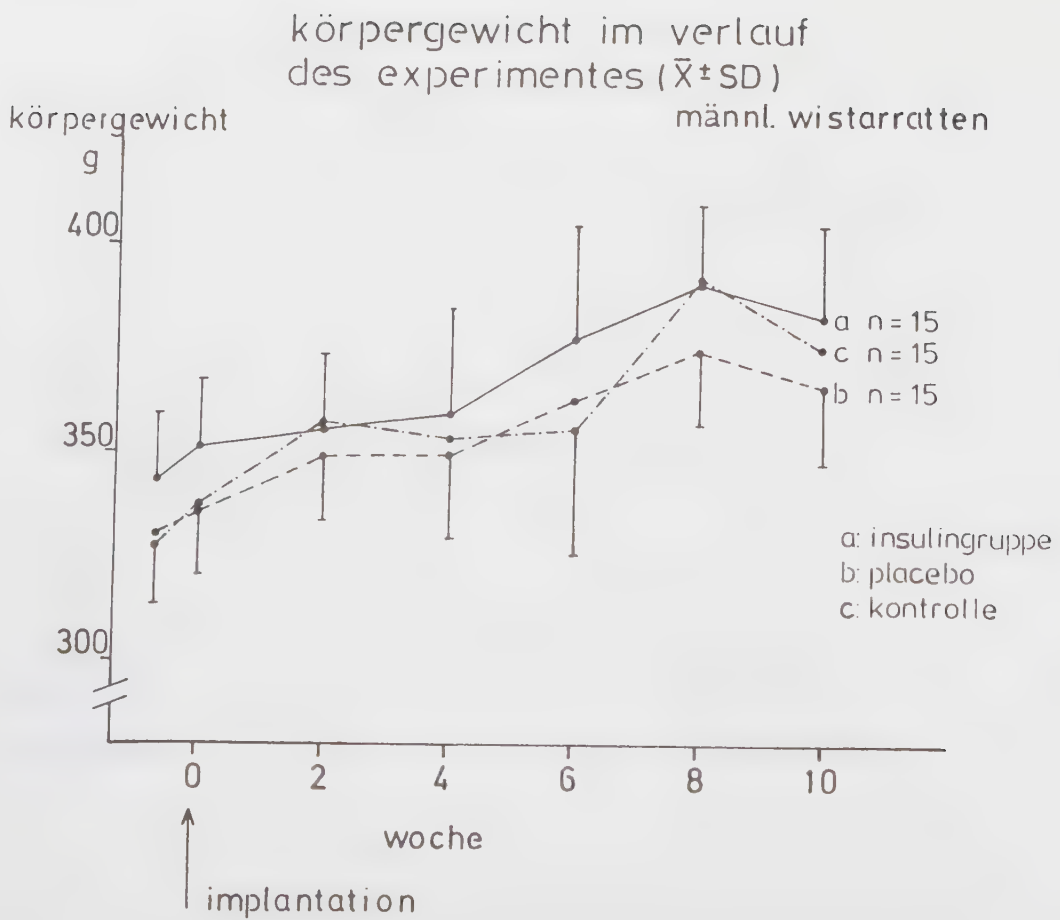

körpergewicht im verlauf
des experimentes ($\bar{X} \pm SD$)
körpergewicht
g
männl. wistarratten
400
350
300
a n = 15
c n = 15
b n = 15
a: insulingruppe
b: placebo
c: kontrolle
0
2
4
6
8
10
woche
implantation

Abbildung 2

Tabelle 5

Wöchentliche Futteraufnahme vor und nach der Pumpenimplantation in g

	vor der Implantation		nach der Implantation								
Ins.	166	155	173	137	127	173	135	101	159	105	76
Plac.	163	154	168	132	128	158	141	88	149	99	78
Kontr	151	151	164	132	144	163	129	103	149	88	82

Aus Tabelle 5 wird ersichtlich, daß sich nach Beginn der Insulin- bzw. Placeboinfusionen kein auffälliger Unterschied in der Futteraufnahme zwischen den Tiergruppen entwickelte. Zwar trat nach Beginn der Operationen offenbar eine Unregelmäßigkeit bezüglich der wöchentlich aufgenommenen Mengen ein, dies aber gleichermaßen bei allen Tiergruppen. Möglicherweise resultierte dieses aus dem Operationsstreß oder aus exogenen Faktoren.

In beiden Versuchen betrug die durch die Pumpleistung bedingte Gewichtsabnahme der Pumpe im Mittel 115 $\pm$ 10,5 µg für die jeweilige Implantationsdauer der einzelnen Pumpe. Daraus ergibt sich eine Pumprate von 0,48 $\pm$ 0,04 µl/Std., entsprechend einer Insulinzufuhr in der Versuchsgruppe von 1,2 $\pm$ 0,15 E/Tag.

Die am ersten Tag des Experimentes sowie 10 Tage vor dessen Beendigung durchgeführte Untersuchung der Insulinantikörper ergab bei keinem der Tiere das Vorhandensein von Antikörpern gegen Insulin.

6.2 Komplikationen

Im Vorversuch traten keine Komplikationen auf.

Im Hauptversuch kam es bei drei Tieren der Insulingruppe zu Komplikationen.

Bei einem Tier ergab die Operation zum Pumpenwechsel am 37. Tag des Experimentes eine Unterbrechung zwischen Insulinpumpe und Katheter. Durch den noch liegenden Katheter wurde das Gewebe um dessen Spitze fixiert und histologisch untersucht.
Eines der Tiere mußte am 47. Tag des Experimentes getötet werden. Die Insulinpumpe begann sich, durch die partiell eröffnete Wunde nach außen zu schieben. Damit war die Kontinuität der Infusion nicht mehr gesichert. Nach Eröffnung der Wundhöhle zeigte sich am Katheteransatz reichlich eitriges Exsudat, der Katheter war 1,5 cm vom Ansatz an der Pumpe porös und brüchig, das distale Bruchstück von einem derben Konglomerat umschlossen.

Eine Ratte der Insulingruppe verstarb am Schlußtag des Experimentes vor Durchführung der Insulinresorptionskinetik.

In der Placebogruppe mußte ein Tier am 46. Tag nachoperiert werden, da die Wunde über der Pumpe teilweise eröffnet war. Die Pumpe befand sich noch vollständig in der Implantationstasche.

6.3 Makroskopische Beobachtungen

Nachfolgend beschriebene Beobachtungen lagen bei allen Tieren des Vorversuches vor, wie auch bei allen Tieren der Insulin- und Placebogruppe des Hauptversuches. Es bestand ein Unterschied im Ausmaß der Reaktionen, bedingt durch die unterschiedliche Dauer der Katheterimplantation.

Nach Ablauf der Implantationsdauer des Katheters war dessen Spitze im Gewebe von einem Konglomerat fest umschlossen. Die Konsistenz war derb elastisch. Der Katheterrest ließ sich manuell nur schwer aus dem fest umschließenden Konglomeratgewebe lösen. Der Durchmesser dieser Konglomerate erreichte bis zu 2 cm, im Vorversuch bis zu 1 cm. Das Fettgewebe des Großen Netzes, in das primär im Hauptversuch implantiert wurde, war makroskopisch kaum mehr zu erkennen. Die Oberfläche der Konglomerate war glatt und deutlich gerötet (Abbildung 3).

Abbildung 3

Makroskopisches Bild nach zehnwöchiger intraperitonealer Katheterimplantation.

6.4 Mikroskopische Beobachtungen

6.4.1 Fettzelldurchmesser

Die Fettzellgröße wurde nur im Hauptversuch bestimmt.

Der Mittelwert der Fettzelldurchmesser lag bei allen drei Tiergruppen zwischen 60 µm und 80 µm. Eine Änderung der Fettzellgröße war unter der Insulininfusion also nicht festzustellen.

Der Hauptanteil der Zellen fand sich bei der Kontrollgruppe in dem relativ engen Durchmesserbereich von 60 µm bis 70 µm, während der quantitativ größte Teil bei der Insulin- und Placebogruppe zwischen 50 µm und 70 µm etwas breiter streute. Subjektiv erschien das Zellbild bei der Kontrollgruppe außerordentlich regelmäßig und homogen, was für die beiden anderen Tiergruppen nicht galt.
Statistisch ließ sich nach der Auszählung von 100 Zellen pro Tier (600 Zellen pro Tiergruppe) keine auffällige Differenz im Mittelwert und der statistischen Streuung der Zellgrößen erkennen.

Mittelwerte der Zelldurchmesser:

Insulingruppe $\bar{x} = 63{,}5 \pm 10{,}9$ µm
Placebogruppe $\bar{x} = 60{,}6 \pm 10{,}4$ µm
Kontrollgruppe $\bar{x} = 70{,}7 \pm 10{,}9$ µm

Verteilung der Durchmesser siehe Abbildung 4.

Abbildung 4
Verteilung der Fettzelldurchmesser.

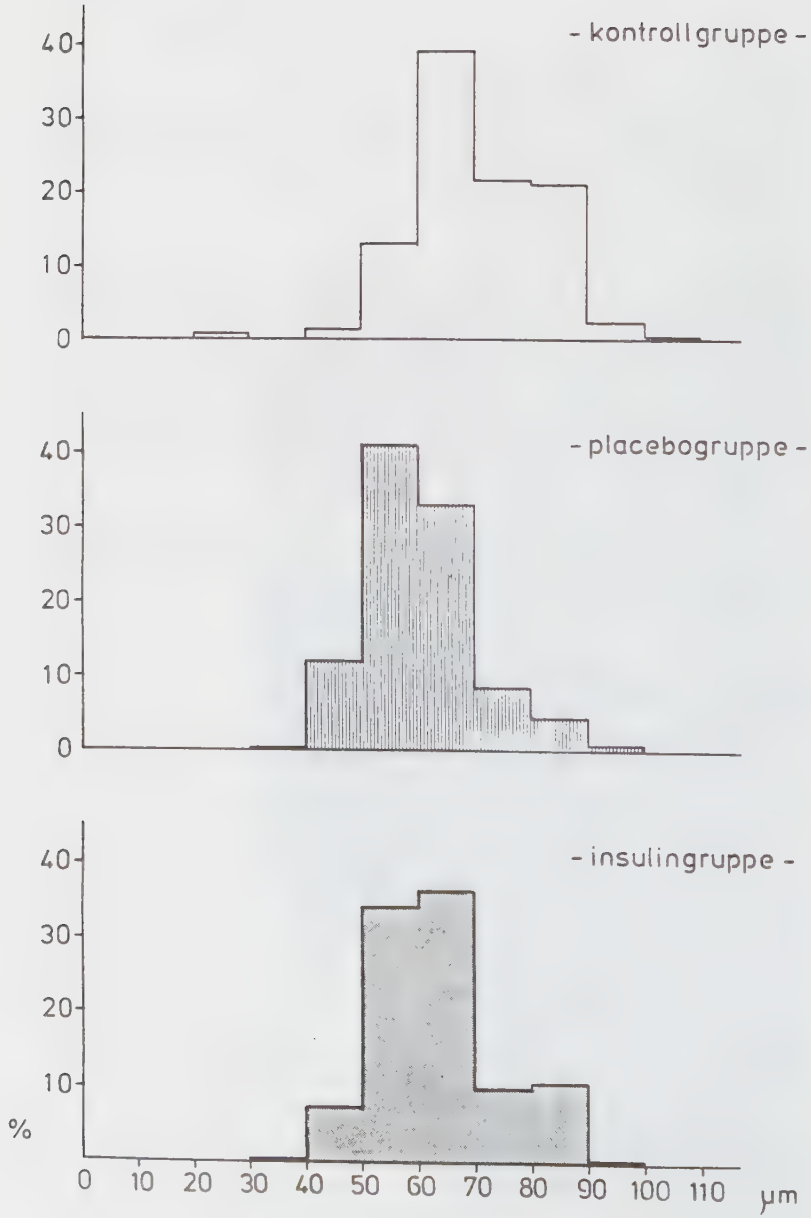


Abbildung 5
Fettzellen aus dem Großen Netz der Kontrolltiere.

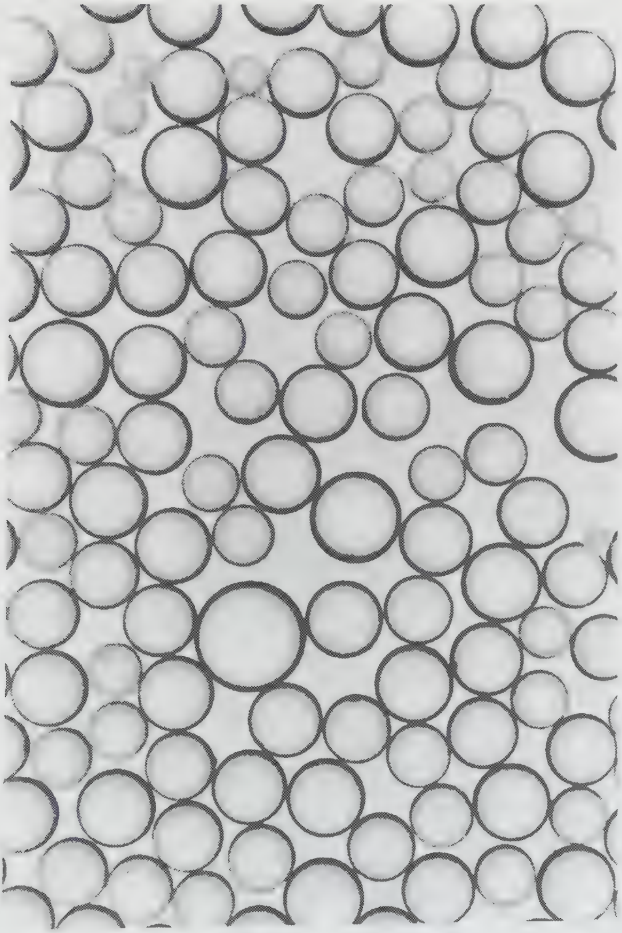
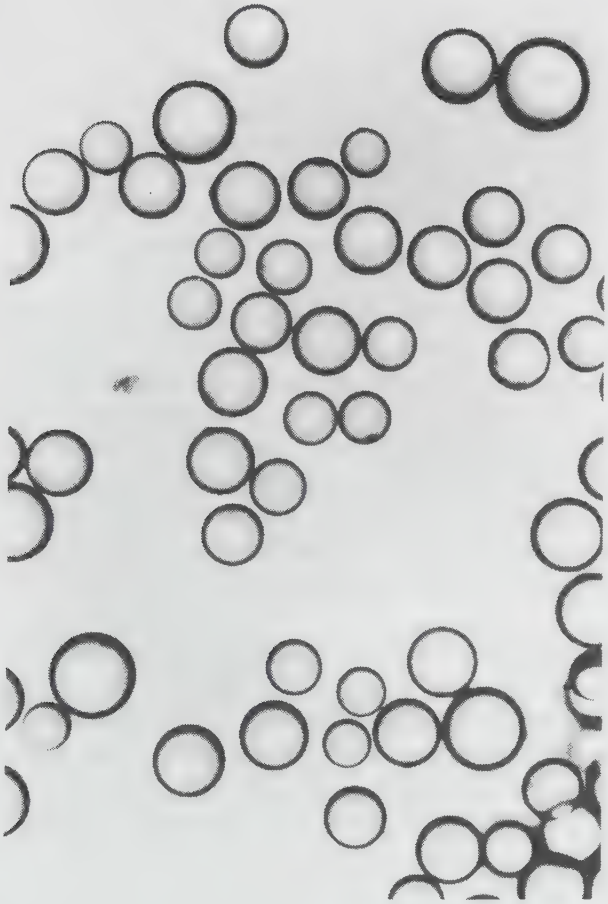


Abbildung 6
Fettzellen aus dem Großen Netz der Insulintiere.

Abbildung 7
Fettzellen aus dem Großen Netz der Placebotiere.



6.4.2 Histologische Befunde

Die um die Spitze des subkutan gelegenen Silikonkatheters entstandenen Konglomerate zeigten histologisch unspezifisches, blandes Granulationsgewebe mit reichlicher Kapillarisierung. Vereinzelt traten Gewebenekrosen im Katheterumfeld auf. Stellenweise fanden sich Ablagerungen eines homogenen, extrazellulären, kongophilen Materials, das nach Kongorot-Färbung im polarisierten Licht eine grüne Fluoreszenz aufwies. Elektronenmikroskopisch zeigten die homogenen, extrazellulären Ablagerungen eine fibrilläre Struktur mit einem Fibrillendurchmesser von 60 Å bis 70 Å. Diese Befunde kennzeichnen die abgelagerte Substanz als Amyloid.
In der Kontrollgruppe war keine Amyloidablagerung festzustellen.

Auch um die Spitze der intraperitoneal implantierten Polyvinylchlorid-Katheter entstanden Konglomerate aus Granulationsgewebe und einem geringen Anteil Fettgewebe. Das Granulationsgewebe war unspezifisch, nicht infiziert, mit Tendenz zur Vernarbung. Bei den Placebotieren ließ sich im Granulationsgewebe eine weitaus geringere Neubildung kollagener Fasern feststellen, als bei den mit Insulin infundierten Tieren. Die zelluläre Zusammensetzung des Granulationsgewebes wies keine Unterschiede zwischen den Tiergruppen auf.

Bei insgesamt geringem Anteil von Fettgewebe sah man bei den mit Insulin infundierten Tieren im unmittelbaren Katheterspitzenbereich quantitativ mehr Fettzellen als bei der Placebogruppe. Bei letzterer war im direkten Umfeld der Katheterspitze in der Regel kein Fettgewebe mehr nachweisbar.
Bei keinem der untersuchten Tiere ließen sich nach der Insulininfusion Lipoblasten oder multivakuoläre Zellen nachweisen.
Bei den Ratten nach intraperitonealer Insulininfusion war in keinem Fall nekrotisches Gewebe im Bereich der Katheterspitze festzustellen.

Elektronenmikroskopisch wiesen die Zellen keine pathologischen Strukturveränderungen auf. Auch die Quantität der Zellorganellen ergab keine Unterschiede zwischen den einzelnen Tiergruppen.
Der semiquantitative Vergleich des Fettzellenanteils im unmittelbaren Katheterspitzenbereich ergab den höheren Anteil bei den Insulintieren, die Bewertung der Fettzelldurchmesser zeigte keine signifikante Differenz zwischen den Tiergruppen, d.h. keine Änderung unter der kontinuierlichen Insulinwirkung. Nach intraperitonealer Insulin- bzw. Placeboinfusion war keine Amyloidablagerung festzustellen.

Histologische Befunde siehe Abbildung 8 - 13.

Abbildung 8

Gewebemantel aus Granulationsgewebe aus der Umgebung der Katheterspitze.

Abbildung 9

Gewebemantel aus Granulationsgewebe aus der Umgebung der Katheterspitze.

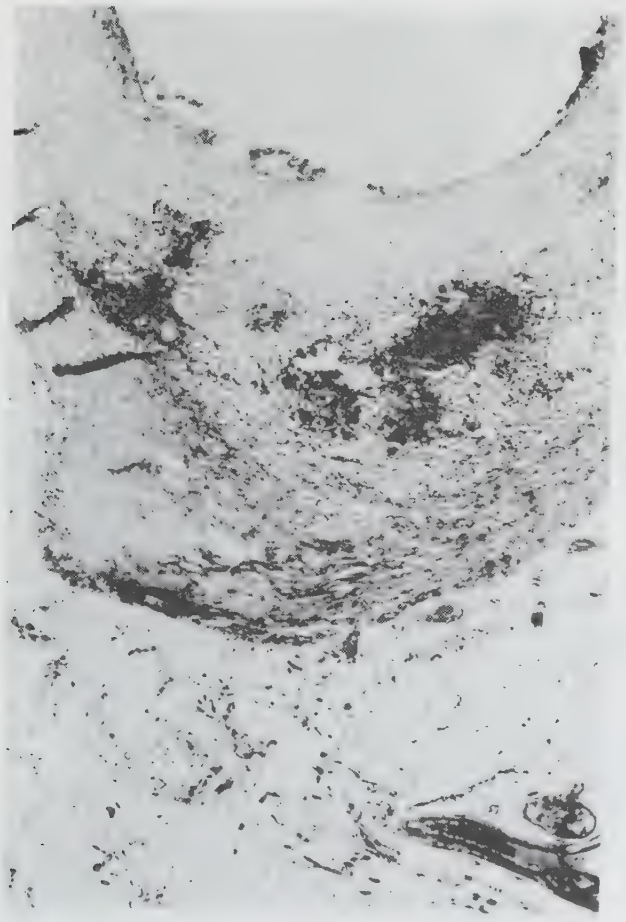


Abbildung 10

Bindegewebskapsel um das ausgebildete Granulationsgewebe.

Abbildung 11

Bindegewebskapsel um das ausgebildete Granulationsgewebe.

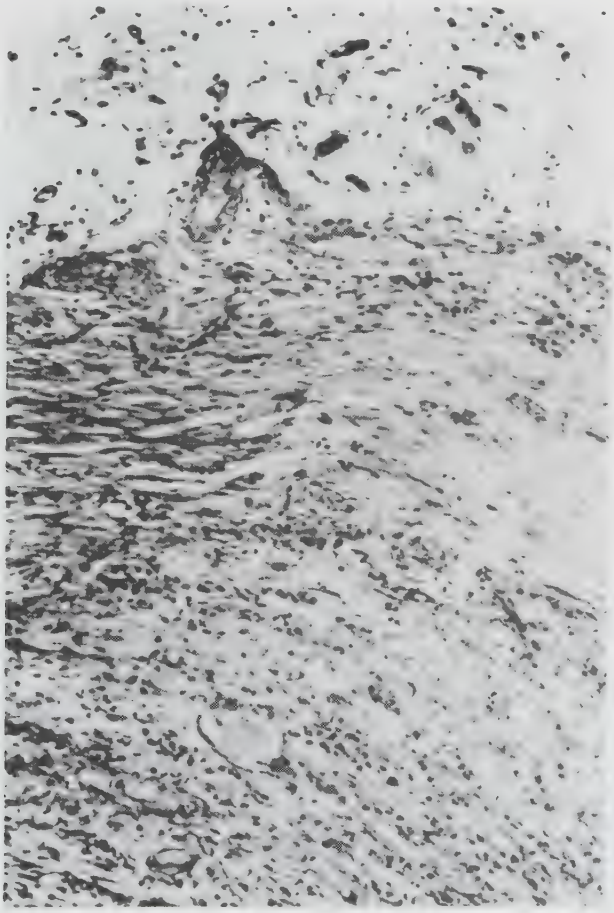


Abbildung 12
Fettgewebe aus der unmittelbaren Umgebung des Granulationsgewebes.

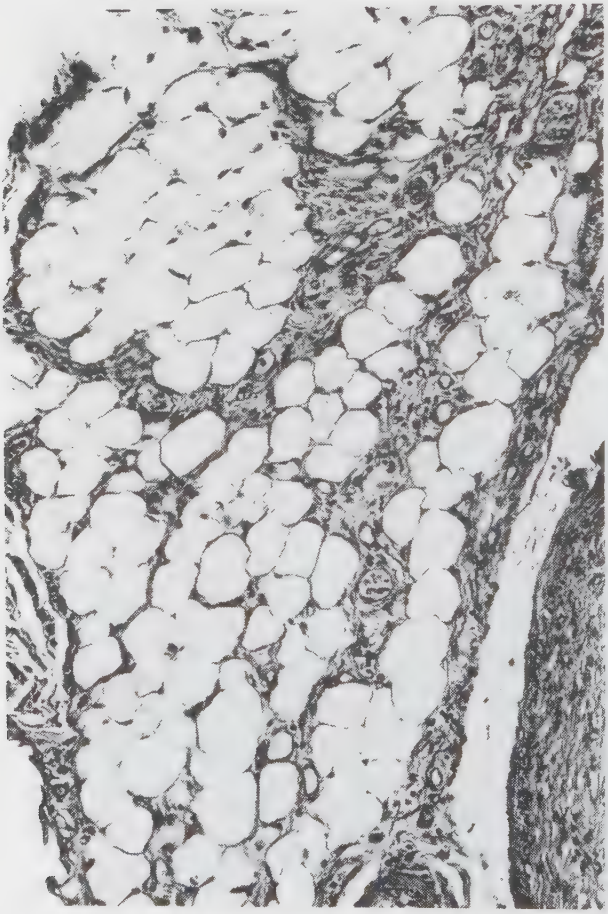
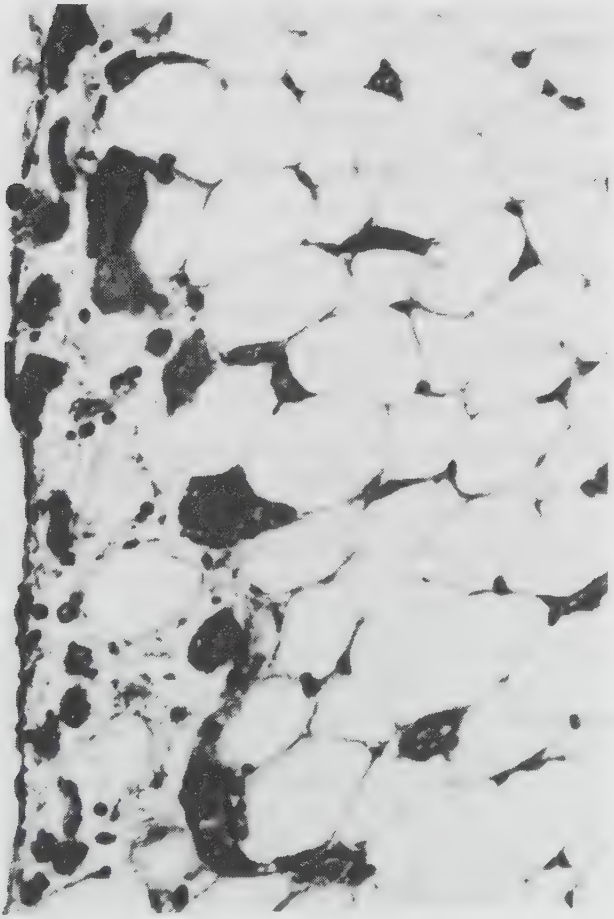


Abbildung 13

Fettgewebe aus der ferneren Umgebung des Granulationsgewebes.



6.5 Ergebnisse der Resorptionskinetik

Blutglukose

Die Mittelwerte der Blutglukose sind in Tabelle 6 und in Abbildung 14 dargestellt, die Ergebnisse der Signifikanzprüfung in Tabelle 8.
Bei den Placebotieren sowie den intraperitoneal und intravenös injizierten Kontrolltieren zeigte sich ein kontinuierlicher Blutglukoseabfall. Die Mittelwerte der Null- und 45-Minutenmeßzeitpunkte ergaben bei der Placebogruppe:

$119{,}6 \pm 3{,}1$ bzw. $76 \pm 5{,}8$ mg/dl,

bei der intraperitoneal injizierten Kontrollgruppe:

$113{,}5 \pm 3{,}8$ bzw. $71{,}5 \pm 5{,}0$ mg/dl

und bei der intravenös injizierten Kontrollgruppe:

$106{,}3 \pm 7{,}6$ bzw. $52{,}5 \pm 4{,}2$ mg/dl.

Der Konzentrationsabfall war in allen Fällen mit $p \leq 0{,}001$ signifikant.

Zwischen den Meßwerten der intraperitonealen Kontrollgruppe und der Placebogruppe ergab sich kein signifikanter Unterschied; alle Werte dieser beiden Gruppen lagen signifikant höher als bei der intravenös injizierten Kontrollgruppe (Tabelle 6).

Das Glukoseprofil der Insulingruppe zeigte im Vergleich mit den anderen drei Tiergruppen einen geringeren Abfall. Der 30- und 45-Minutenwert dieser Tiere lag signifikant höher als bei allen anderen Gruppen.

Plasmainsulin

Die Mittelwerte des peripheren Plasmainsulins sind in Tabelle 7 und in Abbildung 14 dargestellt.
Die intraperitoneale Kontrollgruppe zeigte einen kontinuierlichen Anstieg des Plasmainsulins. Der Ausgangswert war

72 ± 10,2 µU/ml. Ein hoher Anstieg des Insulinspiegels konnte zwischen 10 und 15 Minuten nach der Bolusinjektion, von 159 ± 23,6 auf 231 ± 36 µU/ml, gemessen werden. Danach erfolgte nur noch ein relativ geringer Anstieg bis zum Maximum bei 45 Minuten auf 254 ± 39,3 µU/ml.

Bei der Placebogruppe lag der Ausgangswert bei 82,3 ± 4,9 µU/ml und stieg nach 5 Minuten bereits auf 177,3 ± 22,7 µU/ml. Das Maximum war bei dieser Gruppe nach 30 Minuten mit 210,4 ± 36 µU/ml erreicht ($p \leq 0{,}001$). Nach 45 Minuten erfolgte ein geringer Abfall auf 187,4 ± 43 µU/ml.

Signifikante Differenzen zwischen der intraperitonealen Kontrollgruppe und der Placebogruppe bestanden nicht.

Bei den Insulintieren konnte dagegen nur ein geringfügiger Anstieg des Insulins im Plasma gemessen werden. Der Ausgangswert betrug 67,7 ± 7,9 µU/ml. Nach 10 Minuten waren 75,5 ± 34,9 µU/ml erreicht. Das Maximum lag nach 30 Minuten bei 147,2 ± 57,9 µU/ml. Dieser Anstieg war nicht signifikant. Nach 45 Minuten war ein Abfall des peripheren Plasmainsulins auf 98,6 ± 23,3 µU/ml eingetreten.

Signifikante Unterschiede zwischen der Insulingruppe einerseits sowie intraperitonealer Kontrollgruppe und Placebogruppe andererseits bestanden im 45-Minutenwert; desgleichen bei 5 und 10 Minuten zwischen der Insulin- und Placebogruppe.

Nach intravenöser Bolusinjektion war das Maximum bereits nach 5 Minuten mit einem Wert von 1655 ± 146,7 µU/ml erreicht. Es folgte ein exponentieller Abfall des Insulinspiegels bis auf 344 ± 30,6 µU/ml nach 45 Minuten.
Zwischen den 45-Minutenwerten der i.v. und i.p. Kontrollgruppe bestand kein signifikanter Unterschied. Es bestand aber bei allen Meßwerten der i.v. Kontrollgruppe ein hochsignifikanter Unterschied zu den Werten der übrigen Tiergruppen.

Die Ergebnisse der Signifikanzprüfung im t-Test sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 6

Glukoseprofile der Resorptionskinetik

Mittelwerte der Blutglukose ($\bar{x} \pm$ SEM) in mg/dl, nach Insulinbolus 3 IE/kg.

Tiergruppe	Minuten 0	5	10	15	30	45
Kontroll-tiere i.p.	113,5 ± 3,8	120,5 ± 2,6	113,5 ± 3,8	108,5 ± 3,1	78,2 ± 4,9	71,5 ± 5,0
Kontroll-tiere i.v.	106,3 ± 7,6	100 ± 5,1	77,5^{+} ± 6,2	74,7^{+} ± 5,0	57,2^{+} ± 5,0	52,5^{+} ± 4,2
Placebo-tiere	119,6 ± 3,1	120,6 ± 2,9	110,7 ± 2,9	98,6 ± 4,3	79,3 ± 3,8	76 ± 5,8
Insulin-tiere	114,6 ± 2,2	107,7 ± 3,2	103,5 ± 4,3	108,5 ± 3,9	100,3^{+} ± 6,6	99,1^{+} ± 8,1

$^{+}$ = signifikanter Unterschied zu allen anderen Tiergruppen

Tabelle 7

Insulinprofile der Resorptionskinetik

Mittelwerte des peripheren Plasmainsulins ($\bar{x} \pm$ SEM) in µU/ml, nach Insulinbolus 3 IE/kg

Tiergruppe	Minuten 0	5	10	15	30	45
Kontroll-tiere i.p.	72 ±10,2	126,2 ±10,4	159 ±23,6	231 ±36	233 ±40,8	254 ±39,3
Kontroll-tiere i.v.	72 ± 6,4	1655+ ±146,7	1231+ ±125,3	922+ ±151,3	525+ ±32,5	344 ±30,6
Placebo-tiere	82,3 ± 4,9	177,3 ±22,7	202,7 ±25,3	207,5 ±39,3	210,4 ±36	187,4 ±43
Insulin-tiere	67,7 ± 7,9	76,7 ±42,2	75,5 ±34,9	110 ±47,2	147,2 ±57,9	98,6+ ±23,3

+ = signifikanter Unterschied zu allen anderen Tiergruppen

In den Tabellen 8 und 9 sind die Mittelwerte der Glukose und des Insulins der einzelnen Tiergruppen zu allen Meßzeitpunkten verglichen.
Angegeben sind die Wahrscheinlichkeiten p für das zufällige Zustandekommen von Unterschieden zwischen den Mittelwerten der einzelnen Gruppen, zu den jeweiligen Meßzeitpunkten.

Tabelle 8

Signifikanzprüfung im t-Test für das Glukoseprofil

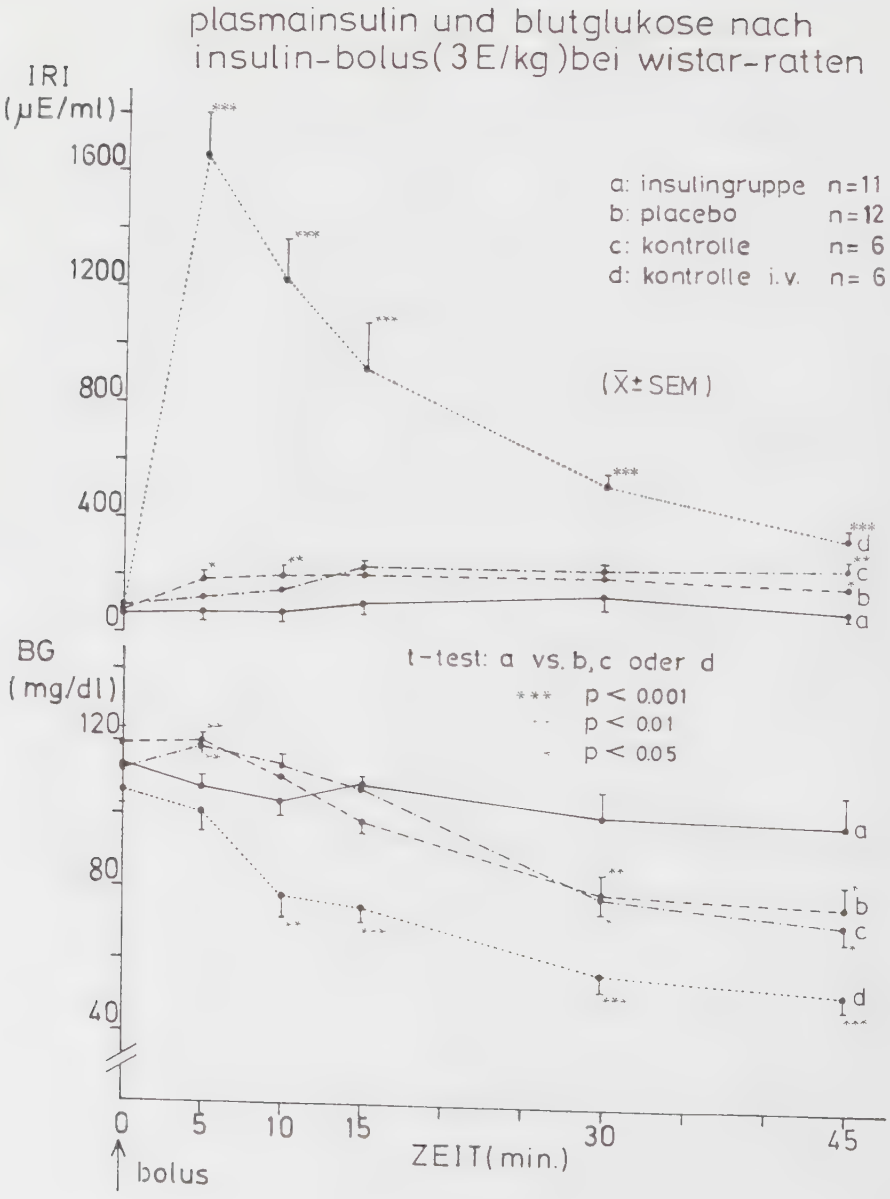
Meßzeitpunkte während der Kinetik		Insulin-gruppe p =	Placebo-gruppe p =	Kontroll-gruppe i.p. p =
Kontroll-gruppe i.v.	5'	0,09967	0,00089	0,00293
	10'	0,00184	0,00003	0,00041
	15'	0,00007	0,00212	0,00014
	30'	0,00028	0,00188	0,00780
	45'	0,00059	0,00699	0,00901
Kontroll-gruppe i.p.	5'	0,00913	0,49276	
	10'	0,07407	0,28741	
	15'	0,49697	0,07702	
	30'	0,01925	0,42932	
	45'	0,01650	0,28041	
Placebo-gruppe	5'	0,00369		
	10'	0,08832		
	15'	0,05503		
	30'	0,00527		
	45'	0,01699		

Tabelle 9

Signifikanzprüfung im t-Test für das Insulinprofil

Meßzeitpunkte während der Kinetik		Insulin-gruppe p =	Placebo-gruppe p =	Kontroll-gruppe i.p. p =
Kontroll-gruppe i.v.	5'	0,00000	0,00000	0,00000
	10'	0,00000	0,00000	0,00001
	15'	0,00001	0,00001	0,00081
	30'	0,00023	0,00003	0,00017
	45'	0,00001	0,01326	0,05189
Kontroll-gruppe i.p.	5'	0,20587	0,07322	
	10'	0,06248	0,14240	
	15'	0,05253	0,35429	
	30'	0,16428	0,35008	
	45'	0,00132	0,16388	
Placebo-gruppe	5'	0,02202		
	10'	0,00365		
	15'	0,06291		
	30'	0,18258		
	45'	0,04288		

Abbildung 14



7. DISKUSSION

Die kontinuierliche Insulinzufuhr hat seit geraumer Zeit eine erfolgreiche Anwendung in der Therapie des Insulin abhängigen Diabetes mellitus gefunden. Ziel jeder Diabetes-Therapie ist es, langfristig die Komplikationen des Diabetes mellitus, vor allem Retinopathie und Nephropathie, zu vermeiden. Heute herrscht die Meinung vor, daß es gerade die unkontrollierten Schwankungen der Blutglukose sind, die für die Entstehung der Mikroangiopathie an Augen und Nieren verantwortlich gemacht werden müssen. Zahlreiche Untersuchungsergebnisse bestätigten, daß Diabetiker während einer Langzeitbehandlung mit einer Insulinpumpe eine auffallend verbesserte Stoffwechselkontrolle erreichen können, weil im Vergleich zur konventionellen Insulintherapie die extremen Blutglukosespitzen fehlen (35), und es besteht die Hoffnung, daß so der Fortgang der diabetischen Komplikationen verzögert oder umgekehrt werden kann (2, 20, 36 - 38, 44). So ließ sich bei schwer einstellbaren Insulin abhängigen Diabetikern sowohl subjektiv als auch objektiv eine Besserung der diabetischen Polyneuropathie unter der kontinuierlichen subkutanen Insulininfusion nachweisen. Die Beschwerden der Patienten besserten sich innerhalb weniger Wochen nach Behandlungsbeginn. Auch objektive Parameter wie die sensible und motorische Nervenleitgeschwindigkeit ergaben eine signifikante Besserung (31, 44).

Trotz dieser positiven Erfahrungen, die hauptsächlich auf der Anwendung externer Insulinpumpen beruhen, zum Beispiel auch in der Betreuung gravider Diabetikerinnen, verbleiben noch wichtige ungelöste Probleme, besonders im Hinblick auf implantierbare Insulinpumpen. Bislang liegen nur wenige Berichte über Komplikationen dieser Pumpen insbesondere in der Langzeitanwendung vor. Probleme, die vor der klinischen Anwendung am Patienten gelöst werden müssen, ergeben sich in erster Linie aus der Exaktheit und der Zuverlässigkeit der Pumpen. Die Frage der Haltbarkeit und Temperaturbestän-

digkeit des Insulins sowie möglicherweise auftretende Wechselwirkungen zwischen Insulin und Kathetermaterialien müssen geklärt werden. Eine Austestung der verwendeten Kathetermaterialien im Langzeitversuch ist unabdingbar. Zwar wurde berichtet, daß Silikon als Kathetermaterial die gewünschte Bioverträglichkeit wegen fehlender Gewebereaktion bzw. fehlender Entwicklung von Tumoren an der Implantationsstelle hat, unsere Ergebnisse zeigen jedoch gegenteilige Befunde. Letzteres gilt auch für die Verwendung von Polyvinylchlorid und anderen synthetischen Materialien.

Schließlich ist die Frage des Applikationsortes bei implantierbaren Pumpen noch nicht geklärt. In der Diskussion sind die subkutane, intravenöse, intramuskuläre und die intraperitoneale Insulinzufuhr. Die subkutane Lokalisation des Katheters bringt zwar den Vorteil der einfachen operationstechnischen Implantierbarkeit und damit auch die Möglichkeit des unkomplizierten Katheterwechsels, die Insulinkinetik zeigt jedoch einen langsamen und verzögerten Anstieg des peripheren Plasmainsulins (nach Schade ist das Maximum erst nach 2 Stunden erreicht).
Trotz einer primär bei subkutaner Applikation erreichbaren Besserung der metabolischen Situation, bleibt die Langzeitanwendung mit Risiken wie lokale entzündliche Reaktionen, Hypo- und Hyperglykämien behaftet (28, 29, 30, 32, 53). Auch wurden lokal allergische Reaktionen mit Induration und Erythembildung beschrieben, die teilweise erst 3 Monate nach Beginn der kontinuierlichen Infusion auftraten (41). Zu klären bleibt auch die Frage, welche Folgen die kürzlich berichtete lokale Amyloidablagerung nach langzeitiger Insulinwirkung hat und ob diese lokal bleibt (30, 54).

Die Insulinapplikation auf intravenösem Wege ergibt den raschesten Anstieg im Plasma und damit die wünschenswerte schnelle Steuerbarkeit des Plasmainsulin- bzw. Plasmaglukosespiegels. Nur bei intravenöser Insulinapplikation ist es annähernd möglich, die Dynamik der physiologischen Insulin-

inkretion durch die Langerhansschen Inseln zu erreichen.

Allerdings liegen Berichte von Irsigler und Schade über diese Applikationsweise vor, nach denen bei intravenöser Katheterlage mit Komplikationen wie Thrombosen, Thrombophlebitiden, Infektionen, Katheterverschluß oder Dislokation des Katheters gerechnet werden muß (23, 25, 48). Geisen berichtete unter Verwendung eines mit einem Silikonschlauch überzogenen Polyäthylenkatheters, daß der Silikon überzogene Teil in die Gefäßwand eingewachsen und der Polyäthylenschlauch umschrieben mit der Gefäßwand verklebt war (17). An diesem hafteten außerdem Thrombi.
Dazu kommt, daß die Gefahr der Hypoglykämie durch fälschlicherweise zuviel gegebenes Insulin bei intravenöser Lage des Katheters größer ist als bei subkutaner Lage, umgekehrt führt eine Unterbrechung der intravenösen Insulinzufuhr wesentlich schneller zu einer ketotischen Stoffwechselentgleisung.

Letztgenannte Probleme und Komplikationen könnten durch die intraperitoneale Insulinapplikation verringert werden, da der Intraperitonealraum ein anatomisch getrennter, extravaskulärer Raum ist. Zum zweiten zeigen die Ergebnisse der Insulinresorptionskinetik aus dem Peritonealraum, daß sich die Insulinresorption rasch vollzieht (das Maximum ist nach 45 Minuten erreicht), so daß eine bessere Kontrolle einer postprandialen Hyperglykämie möglich zu sein scheint. Des weiteren ist bei peritonealer Zufuhr des Insulins ein "first pass effect" durch die Leber möglich, so daß nur 50 % der infundierten Insulinmenge in der peripheren Zirkulation erscheinen und damit die Gefahr eines peripheren Hyperinsulinismus verringert ist (47). Weiterhin wäre durch die räumlichen Verhältnisse eine Pumpenimplantation ohne kosmetische Beeinträchtigung des Trägers möglich.

Diese Vorteile sind bislang hauptsächlich in Kurzzeitversuchen bestätigt, obgleich nach Piwernetz auch bei langzeitiger kontinuierlicher intraperitonealer Insulinzufuhr

(122 Tage) eine gute Blutglukosehomöostase erreicht werden konnte und keine Katheterverstopfung beobachtet wurde (42). Ähnlich befriedigende Ergebnisse berichtete Kritz über einen maximal 450 Tage intraperitoneal liegenden Polyäthylenkatheter (26, 27).

Unsere Beobachtungen zeigen, daß sich im Tierversuch bei intraperitonealer Infusion, wie auch bei subkutaner Infusion, ein Konglomerat an der Katheterspitze entwickelt hatte. Histologisch bestand dieses aus Granulationsgewebe mit Tendenz zur Fibrose und einem geringen Anteil Fettgewebe. Wesentlich ist die Frage, ob dadurch die Bioverfügbarkeit des Insulins verändert wird. Zur Klärung dieser Frage diente die Durchführung der Insulinresorptionskinetik. Bei den mit Insulin infundierten Tieren war sowohl das zeitliche Maximum der Insulinresorption, als auch die Quantität der Resorption im Vergleich zu den Kontrollen verändert.
Bei der Interpretation der Ergebnisse der Resorptionskinetik ist einerseits die histologische Struktur der Konglomerate zu bedenken, so die ausgeprägte Tendenz zur Fibrosierung bei den mit Insulin infundierten Tieren, zum anderen werden auch grundsätzliche methodische Fragen aufgeworfen. So erfolgte die Durchführung nicht mit homologem, sondern mit heterologem Insulin, da endogenes Ratteninsulin nicht in den erforderlichen Mengen, bzw. nicht in der erforderlichen galenischen Zubereitung zur Verfügung stand. Letzteres gilt auch für eine Methode zum Nachweis von endogenem Ratten-C-Peptid. Daraus ergeben sich Probleme des Insulinnachweises im Blut. Allerdings kann davon ausgegangen werden, daß die Inkretion des endogenen Ratteninsulins durch die Applikation von exogenem Insulin supprimiert wird (14 a). Weiterhin ist die Problematik der simultanen Messung von endogenem und exogenem Insulin in allen Versuchsgruppen ähnlich. Mögliche Fehler der absoluten Werte dürften deshalb nicht die relativen Unterschiede der Ergebnisse zwischen den Tiergruppen beeinflussen.
Auffällig ist die deutlich verlängerte Halbwertszeit des Insulins gegenüber der in der Literatur beschriebenen (3 - 5 Min.) (6, 6 b, 19 a, 36). Eine Verlängerung der Halbwertszeit dieser

Größenordnung kann bei Vorliegen von Antikörpern gegen Insulin beobachtet werden. Beim vorliegenden Experiment hatten die intravenös und die intraperitoneal injizierten Kontrolltiere vor Durchführung der Resorptionskinetik noch nie Kontakt mit Rinderinsulin, die mit dem Placebopräparat infundierten Tiere erst am Vortag der Durchführung der Kinetik. Die Verlängerung der Halbwertszeit kann folglich nicht durch das Auftreten von Antikörpern gegen Insulin erklärt werden. Eine Beeinflussung der Halbwertszeit durch die Narkose bzw. durch die damit verbundene Depression des Kreislaufes wäre möglicherweise denkbar. Antikörper können auch nicht für die Verzögerung der Resorption bei den Tieren mit implantiertem Katheter herangezogen werden, da diese Verzögerung nicht nur bei den mit Insulin infundierten Tieren, sondern auch bei den mit dem Placebopräparat infundierten Tieren auftrat. Bei keinem der Tiere, auch nicht in der Tiergruppe nach kontinuierlicher Insulininfusion,konnten in unseren Untersuchungen Antikörper nachgewiesen werden.

Eine blande Peritonitis, wie sie Geisen bei seinen tierexperimentellen Untersuchungen feststellte, konnte in unseren histologischen Untersuchungen nicht nachgewiesen werden (17). Bezüglich Geschwindigkeit und Ausmaß der Insulinresorption bestätigten unsere Ergebnisse in der Tendenz diejenigen von Schade, daß im Vergleich der Applikationswege die intravenöse Insulinzufuhr die rascheste und quantitativ größte Stoffwechselwirkung erzielt (47, 48, 50).

Die aufgrund pathophysiologischer Überlegungen denkbaren spezifischen Wirkungen des Insulins am Fettgewebe konnten nicht festgestellt werden. Weder das Auftreten eines Netzlipoms, wie es Albisser als Zufallsbeobachtung nach intraperitonealer Insulinapplikation feststellte, noch eine Fettgewebshypertrophie war zu erkennen. Eine Beeinflussung der (veränderten) Insulinresorption durch Änderungen im Fettgewebe scheint nicht vorzuliegen. Allenfalls läßt sich der höhere Fettzellanteil im unmittelbaren Katheterspitzen-

bereich bei den mit Insulin infundierten Tieren im Sinne einer Tendenz interpretieren. Möglicherweise lassen noch länger dauernde Untersuchungen eindeutigere Ergebnisse zu.

Weiterer Klärung bedarf die Ursache der Konglomeratentstehung. Denkbar ist eine direkte Fremdkörperreaktion auf die Kathetermaterialien, im vorliegenden Fall Silikon und Polyvinylchlorid. Lokale Fremdkörpergranulome sowie entzündliche Infiltrate mit Abszedierung wurden auch als Reaktion auf Polyäthylen festgestellt (17, 32).

Denkbar ist aber auch die Entstehung der Konglomerate als Resultat einer Wechselwirkung zwischen Infusionslösung und Kathetermaterial.

Der Vergleich der Applikationsarten für die maschinelle kontinuierliche Insulinzufuhr läßt den Intraperitonealraum prinzipiell als geeignet erscheinen. Durch Verringerung des Risikos einer Thrombose oder Infektion im Vergleich zur intravenösen Applikation, bei gleichzeitig rascher und quantitativ ausreichender Resorption, ergeben sich Vorteile der intraperitonealen Katheterlokalisation.
Die Gefahr einer Peritonitis durch bakterielle Kontamination extern lokalisierter Pumpen mit intraperitonealem Katheter ist bei implantierten Pumpen geringer, da der Kontaminationsweg entlang der äußeren Katheteroberfläche nicht gegeben ist und die bakteriziede Wirkung des Insulins selbst an der inneren Katheteroberfläche einen Schutz darstellt.

Die Forderungen an das Kathetermaterial bestehen einmal in der erforderlichen Bioverträglichkeit und damit der Gewährleistung der Kontinuität der Insulinresorption, zum zweiten muß die Stabilität des Materials für die Langzeitanwendung gesichert sein. Trotz der notwendigen Stabilität darf die Rigidität des Katheters nicht zu ausgeprägt sein,

um im Falle einer Dislokation die Gefahr der Gefäßverletzung oder der intestinalen Perforation auszuschließen.

In diesem Sinne positive Berichte gaben Kritz und Irsigler kürzlich unter Verwendung eines Polyäthylenkatheters im Langzeitversuch, bei dem keinerlei Komplikationen auftraten (26).

Sicherlich ist es notwendig, Kriterien für die Auswahl der Patienten und der Applikationsformen bei der Therapie mit extern tragbaren und implantierbaren Insulinpumpen zu definieren. Beispielsweise ist die intraperitoneale Applikation, wie beschrieben, für die Langzeittherapie eines Diabetes mellitus geeigneter als andere Applikationsformen, dagegen erscheint die intravenöse Insulinzufuhr in Situationen wie dem Coma diabeticum, bei der Führung gravider Diabetikerinnen unter der Geburt oder während chirurgischen Eingriffen bei Diabetikern vorteilhafter. Die Wahl der subkutanen Infusion könnte angebracht sein, wenn Operabilität für eine intraperitoneale Implantation nicht gegeben ist. Eine klare Definition von Indikationen und Kontraindikationen der einzelnen Infusionswege muß deshalb erfolgen.

Auch sind die psychologischen Reaktionen der Patienten auf die Anwendung der Pumpen zu beachten. Pickup beschrieb, daß sich manche Patienten unter Anwendung dieser Therapieform verstärkt ihrer Krankheit bewußt wurden, u.a. auch durch die notwendige häufige Selbstkontrolle des Blutglukosespiegels. Weiterhin stellt die Abhängigkeit von der Maschine sowie die Angst vor deren Versagen ein Problem für die Patienten dar (40). Daraus ergeben sich auch erweiterte Anforderungen an den betreuenden Arzt.

Nachfolgend sind zur Klärung der erwähnten Probleme weitere langzeitige Versuche notwendig, um eine patientengerechte Sicherheit und Genauigkeit der implantierbaren Insulinpumpen zu erreichen.

8. ZUSAMMENFASSUNG

Die Insulintherapie mit Hilfe kontinuierlicher Infusionssysteme wird seit geraumer Zeit erfolgreich angewendet. Die Probleme dieser Therapie, insbesondere die Frage des Applikationsortes, sind aber erst zum Teil gelöst. Über Komplikationen der kontinuierlichen Insulinzufuhr ist bisher nur selten berichtet worden.

Die der vorliegenden Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungen wurden insgesamt an 70 Tieren durchgeführt. Den Versuchstieren wurden 1,2 E Insulin/24 Std. infundiert, die Kontrollgruppen erhielten physiologische Kochsalzlösung bzw. insulinfreie Trägerlösung. Unter diesen Infusionen entwickelten sich keine wesentlichen Änderungen des Blutglukosespiegels, des Gewichtsverhaltens sowie der Futteraufnahme.

Nach 6wöchiger Implantation eines subkutanen Silikonkatheters bzw. nach 10wöchiger Implantation eines intraperitonealen Tygon (Polyvinylchlorid)-Katheters traten unabhängig vom Infusat lokale Reaktionen auf. Die Katheterspitzen waren von einem derb elastischen Konglomerat umschlossen, dessen Oberfläche glatt und gerötet war.

Die kontinuierliche Insulinzufuhr führte zu keiner eindeutigen Beeinflussung der Fettzellmorphologie. Die Entwicklung der Fettzellgrößen ergab keinen signifikanten Unterschied. Histologisch zeigten die Konglomerate ein unspezifisches, nicht entzündliches, reichlich kapillarisiertes Granulationsgewebe. Bei den Insulintieren nach subkutaner Applikation fanden sich Ablagerungen von Amyloid. Letztere waren weder bei den Kontrolltieren, noch nach intraperitonealer Insulininfusion nachzuweisen.

Die morphologischen Reaktionen ergaben auch Änderungen in der Insulinresorptionskinetik. Die Applikation eines Insulinbolus von 3 E/kg Körpergewicht durch den intraperitonealen

Katheter ergab einen deutlich geringeren Anstieg des Insulins und einen geringeren Abfall der Blutglukose bei den mit Insulin infundierten Tieren im Vergleich zu den Kontrollen.

Die Untersuchungen zeigen, daß eine kontinuierliche Insulininfusion mittels Katheter zu Fremdkörperreaktionen mit Beeinträchtigung der Resorptionskinetik führen kann.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Albisser A.M., Botz C.K., Leibel B.S.: Blood glucose regulation using an open-loop insulin delivery system in pancreatectomized dogs given glucose infusions. Diabetologia 16, 129-133 (1979)

2. Albisser A.M., Leibel B.S., Ewart T.G., Davidovac Z., Botz C.K., Zingg W., Schipper H., Gander R.E.: Clinical control of diabetes by the artificial pancreas. Diabetes 23, 397-404 (1974)

3. Albisser A.M.: Diskussionsbemerkung und persönliche Mitteilung, Panel on insulin infusion systems. Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Wien (1979)

4. Barbosa J., Menth L., Eaton J., Sutherland D., Freier E.F., Najarian J.: Long-term, ambulatory, subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injections in brittle diabetic patients. Diabetes Care 4, 269-273 (1981)

5. Bettendorf U.: Peritoneale Resorption über die Lymphbahnen des Zwerchfells. Dtsch. med. Wschr. 104, 1143-1145 (1979)

6. Berger M., Halban L., Girardier L., Seydoux J., Offord R.E., Renold A.E.: Absorption kinetics of subcutaneously injected insulin. Diabetologia 17, 97-99 (1979)

6a. Berger M., Sonnenberg G.E., Chantelau E.A.: Insulin pump treatment for diabetes; some questions can be answered already. Clin. Physiol. Oct. 2, 351-355 (1982)

6b. Berger M., Halban P.A., Muller W.A. Offord R.E., Renold A.E., Vranic M.: Mobilization of subcutaneously injected tritiated insulin in rats: effects of muscular exercise. Diabetologia 15, 133-140 (1978)

7. Björntorp P.: The effect of insulin in vitro on human adipose tissue from normal and diabetic subjects. Acta med. Scan. 181, 389-402 (1967)

8. Björntorp P., Sjöström L.: The composition and metabolism in vitro of adipose tissue fat cells of different size. Eur. J. clin. Invest. 2, 78-84 (1972)

9. Bojsen J., Deckert T., Kølendorf K., Lørup B.: Patient-controlled portable insulin infusion pump in diabetics. Diabetes 28, 974 (1979)

10. Botz C.K., Leibel B.S., Zingg W., Gander R.E., Albisser A.M.: Comparison of peripheral and portal routes of insulin infusion by a computer-controlled insulin infusion system (artificial endocrine pancreas). Diabetes 25, 691-700 (1971)

11. Blacksher P.J., Rohde T., Grotting J.C., Dorman F., Perkins P.R., Varco R.L.: Control of blood glucose in experimental diabetes by means of a totally implantable insulin infusion device. Diabetes 28, 634 (1979)

12. Caplan R.H., Pagliara A.S., Beguin E.A., Smiley C.A., Bina-Frymark M., Buchwald H., Goettl K.A., Hartigan M., Tankersley J.C., Peck Th.M.: Constant intravenous insulin infusion during labor and delivery in diabetes mellitus. Diabetes Care 5, 6-10 (1982)

13. Champion M.C., Shepherd G.A.A., Rodger N.W., Dupre J.: Continuous subcutaneous infusion of insulin in the management of diabetes mellitus.
Diabetes 29, 206-212 (1980)

14. Crossley K., Kjellstrand E.M.: Intraperitoneal insulin for control of blood sugar in diabetic patients during peritoneal dialysis.
Br. Med. J. 30, 269-270 (1971)

14a. Cueppers H.J.: Pharmakokinetik subkutan injizierten Insulins, klinisch experimentelle Untersuchungen zur Insulin-Absorption.
Habilitationsschrift an der Universität Düsseldorf (1981)

15. Feling P.: Insulin delivery devices (Editorial).
Ann. Intern. Med. 93, 627-629 (1980)

16. Frankel B., Schmid, F.G., Grodsky G.M.: Effect of continuous insulin infusion with an implantable seven-day minipump in the diabetic chinese hamster.
Endocrinology 104, 1532-1538 (1979)

17. Geisen K., Keil M.: Tierexperimentelle Untersuchungen zum Insulinapplikationsort bei implantierten Insulin-Dosiergeräten.
Akt. Endokr. Stoff. 2, 76 (1982)

18. Gries F.A., Steinke J.: Insulin and human adipose tissue in vitro: a brief review.
Metabolism 16, 693-696 (1967)

19. Gries F.A., Oberdisse K.: Fettstoffwechselstörung und Diabetes mellitus.
Dtsch. med. Wschr. 95, 727-734 (1970)

19a. Halban P.A., Berger M., Offord R.E.: Distribution and metabolism of intravenously injected tritiated insulin in rats.
Metabolism 11, 1097-1104 (1979).

20. Hanna A.K., Minuk H.L., Albisser A.M., Marliss E.B., Leibel B.S., Zinman B.: A portable system for continuous intravenous insulin delivery: Characteristics and results in diabetic patients.
Diabetes Care 3, 1-7 (1980)

21. Herberg L., Gries F.A., Hesse-Wortmann C.: Effects of weight and cell size on hormon-induced lipolysis in New Zealand obese mice and American obese hyperglycemic mice.
Diabetolgia 6, 300-305 (1970)

22. Hirsch J., Gallian E.: Methods for the determination of adipose cell size in man and animals.
J. Lipid Res. 9, 110-119 (1968)

23. Irsigler K. Kritz H.: Long-term continuous intravenous insulin therapy with a portable insulin dosage-regulating apparatus.
Diabetes 28, 196-203 (1979)

24. Irsigler K., Kritz H., Hagmüller G., Franetzki M., Prestele K., Thurow H., Geisen K.: Long-term continuous intraperitoneal insulin infusion with an implanted remote-controlled insulin infusion device.
Diabetes 30, 1072-1075 (1981)

25. Irsigler K., Kritz H.: Alternate routes of insulin delivery.
Diabetes Care 3, 219 (1980)

26. Irsigler K., Kritz H.: Intravenous, intraperitoneal, intramuscular, and subcutaneous routes of continuous insulin delivery.
Abstracts, Satellite Workshop, Portable insulin infusion devices. March 18/19 (1981) Basel

27. Kritz H., Hagmüller G., Najemnik C., Irsigler K.: Extern tragbare Insulininfusionspumpen - Übersicht über mehr als 6800 Patiententage.
Akt. Endokr. Stoffw. 2, 73 (1982)

28. Kashiwagi S., Schottenfeld Y., Kessler C., Schreiber S., Grodtke N., Gries F.A.: Komplikationen der kontinuierlichen Insulin-Infusion bei Langzeitbehandlung.
Akt. Endokr. Stoffw. 2, 74 (1982)

29. Kashiwagi S., Morguet A., Kiesel U., Herberg L., Müntefering H., Schmitt V., Schönwald F.: Komplikationen der kontinuierlichen Insulininfusion bei Menschen und Ratten.
Wien. med. Wschr. 131, Suppl. 67 (1981)

30. Kashiwagi S., Schottenfeld Y., Kessler C., Schreiber S., Grodtke N., Gries F.A.: Technical problems and complications of treatment with continuous insulin infusion systems (CIIS).
Diabetologia 23, 178 (1982)

31. Kemmler W., Walter H., Kronski D., Franetzki M., Prestele K., Mehnert H.: Stoffwechselkontrolle bei einer Typ I-Diabetikerin nach Implantation eines Insulindosiergerätes.
Akt. Endokr. Stoffw. 2, 75 (1982)

32. Klein E., Kötter M., Finck D.: Komplikationen und Kostenaufwand bei ambulanter Behandlung mit tragbaren Insulin-Infusions-Systemen.
Akt. Endokr. Stoffw. 2, 75 (1982)

33. Noever, G.: Untersuchungen zum Verhalten von Körpergewicht, Blutglukose und Plasmainsulin, sowie zur Entwicklung der Fettgewebszellularität von Neugeborenen Streptozotocin-diabetischer, weiblicher Osborne Mendel Ratten.
Dissertation an der
Universität Düsseldorf (1980)

34. Perlman K., Ehrlich R.M., Filler R.M., Albisser A.M.: Waveform requirements for metabolic normalization with continuous intravenous insulin delivery in man.
Diabetes 30, 710 (1981)

35. Pfeiffer E.F.: Wohin tendiert die Diabetologie?
Dtsch. Ärztebl. 16, 55-69 (1982)

36. Pickup J.C., Keen H., Stevenson R.W., Parsons J.A., Alberti K.G.M.M., Kohner E.M., White M.: Insulin via continuous subcutaneous infusion.
Lancet II, 988 (1979)

37. Pickup J.C., Keen H., Parsons J.A., Alberti K.G.M.M., Rowe A.S.: Continuous subcutaneous insulin infusion: Improved blood glucose and intermediary-metabolite control in diabetics.
Lancet I, 1255 (1979)

38. Pickup J.C., White M.C., Keen H., Kohner E.M., Parsons J.A., Alberti K.G.M.M.: Long-term continuous subcutaneous insulin infusion in diabetics at home.
Lancet II, 870 (1979)

39. Pickup J.C., Keen H.: Continuous subcutaneous insulin infusion: A developing tool in diabetes research. Diabetologia 18, 1-4 (1980)

40. Pickup J.C., Keen H., Viberti G.C., Bilous R.W.: Patient reactions to long-term outpatient treatment with continuous subcutaneous insulin infusion. Br. Med. J. 282, 766 (1981)

41. Pietri A., Raskin P.: Cutaneous complications of chronic continuous subcutaneous insulin infusion therapy. Diabetes Care 6, 624-626 (1981)

42. Piwernetz K., Renner R., Hepp K.D.: Erfahrungen mit der kontinuierlichen intraperitonealen Insulininfusion bei Typ I-Diabetikern. Akt. Endokr. Stoffw. 2, 73 (1982)

43. Rodbell M.: Metabolism of isolated fat cells: Effects of hormone on glucose metabolism and lipolysis. J. Biol. Chem. 239, 375-380 (1964)

44. Roloff M., Augspach R., Kashiwagi S., Toyka K.V., Schottenfeld Y., Gries F.A.: Langzeitbeobachtungen der diabetischen Polyneuropathie unter der Behandlung mit der kontinuierlichen subkutanen Insulininfusion. Akt. Endokr. Stoffw. 2, 72 (1982)

44a. Rosselin G., Assa R., Jalow R.S., Berson S.A.: Separation of antibody bound and unbound peptide hormone labeled with jodine 131 by talcum powder and precipitated silica. Nature 212, 355 (1966)

45. Schade D.S., Eaton R.P., Friedman N.M., Spencer W.J.: Normalization of plasma insulin profiles with intraperitoneal insulin infusion in diabetic man. Diabetologia 19, 35-39 (1980)

46. Schade D.S., Eaton R.P., Carlson G.A., Bair R.E., Gaona J.I., Love J.T., Urenda R.S., Spencer W.J.: Future therapie of the insulin-dependent diabetic patient. The implantable insulin delivery system. Diabetes Care 4, 319-324 (1981)

47. Schade D.S., Eaton R.P., Spencer W., Goldman R., Corbett W.: The peritoneal absorption of insulin in diabetic man: A potential site for a mechanical insulin delivery system.
Metabolism 3, 195-197 (1979)

48. Schade D.S., Eaton P.R., Friedman N., Spencer W.: The intravenous, intraperitoneal, and subcutaneous routes of insulin delivery in diabetic man.
Diabetes 28, 1069-1072 (1979)

49. Schade D.S., Eaton P.R., Spencer W.: Normalization of plasma insulin profiles in diabetic subjects with programmed insulin delivery.
Diabetes Care 3, 9 (1980)

50. Schade D.S., Eaton P.R.: The peritoneum - a potential insulin delivery route for a mechanical pancreas.
Diabetes Care 3, 229-234 (1980)

51. Schiffrin A., Belmonte M.: Combined continuous subcutaneous insulin infusion and multiple subcutaneous injections in type I diabetic patients.
Diabetes Care 4, 595 (1981)

52. Sonnenberg G.E., Chantelau E., Berger M.: Ein neues therapeutisches Prinzip in der Diabetologie: kontinuierliche Insulininfusion mittels portabler Pumpen.
Dtsch. med. Wschr. 28, 891-893 (1981)

53. Waldhäusl W., Freyler H., Kiss A., Vierhapper H., Panzer S.: Hypoglykämie und andere Komplikationen bei kontinuierlicher subkutaner Insulininfusion. Akt. Endokr. Stoffw. 2, 74 (1982)

54. Williamson J.R., Bahoric A., Perlman K., Albisser A.M.: Secondary amyloidosis in (beagle) dogs receiving intravenous insulin via mechanical pumps. Diabetes 31, Suppl. 2 (1982)

L e b e n s l a u f

Am 19.7.1954 wurde ich als erstes Kind des Postbeamten Günther Schmitt und seiner Frau Ursula, geborene Bienert, in Bodenkirchen/Niederbayern, Kreis Vilsbiburg, geboren. Bald darauf zogen wir nach Stuttgart, wo ich Ostern 1961 in die Grundschule eingeschult wurde. An weiterführenden Schulen besuchte ich zunächst das Friedrich Schiller-Gymnasium in Fellbach bei Stuttgart und nach einem weiteren Umzug die Justus Liebig-Schule in Darmstadt.

Im Frühjahr 1974 bestand ich die Reifeprüfung. Anschließend absolvierte ich meinen Zivildienst in den Städtischen Kliniken in Darmstadt, wo ich auch meine Ausbildung zum Krankenpflegehelfer erhielt, die ich 1976 mit dem Examen beendete. Bis zur Zulassung zum Medizinstudium an der Universität Düsseldorf im Sommer 1977 arbeitete ich im Krankenpflegedienst.

Im Sommer 1979 legte ich die ärztliche Vorprüfung ab, im Sommer 1980 bestand ich den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung, im Sommer 1982 den zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung. In der Zeit von 1980 bis 1982 arbeitete ich an meiner Dissertation.
Ich bereite mich jetzt auf den dritten Abschnitt des Staatsexamens vor.

L e b e n s l a u f

Am 18.7.1954 wurde ich als 3. Kind des Imkermeisters Ernst Schönwald und seiner Ehefrau Erika, geb. Grunwald, in Selters, Westerwald, geboren.
Ich habe noch zwei ältere Schwestern und zwei jüngere Brüder.

1961 wurde ich in die Volksschule Selters eingeschult, die ich bis Ostern 1966 besuchte. In diesem Jahr wechselte ich auf die Martin-Butzer-Schule in Dierdorf, einem Nachbarort, über. Diese Schule schloß ich im Mai 1974 mit der Reifeprüfung ab.

Es folgten zwei Jahre Militärdienst als Sanitäter.

Zum Sommersemester 1977 erhielt ich die Zulassung für das Medizinstudium an der Universität Düsseldorf. Dort bestand ich 1979 die ärztliche Vorprüfung, 1980 den ersten Teil und 1982 den zweiten Teil der ärztlichen Prüfung.

Das praktische Jahr leiste ich zur Zeit in den Kliniken St. Antonius in Wuppertal ab.
Mit der Dissertation beschäftige ich mich seit 1980.
Seit Mai 1981 bin ich verheiratet.

Friedhelm Schönwald

Druck und Verarbeitung: copy shop, darmstadt, tel. 21353